



UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI
BOUMEDIENE (U.S.T.H.B.) ALGER

THESE

Présentée à l'U.S.T.H.B. pour l'obtention du grade de:

DOCTEUR D'ETAT EN CHIMIE

Option : **CHIMIE ORGANIQUE APPLIQUEE**

Par

DIDAOUI LINDA épouse RABIA

**APPLICATION D'UNE METHODE MATHEMATIQUE POUR
LA DETERMINATION DES DONNEES DE RETENTION DE
FAMILLES CONGENERIQUES EN CHROMATOGRAPHIE
LIQUIDE**

Soutenue publiquement le : 16/03/2002

Devant le Jury composé de :

Mr. M. MOUZALI	Professeur (U.S.T.H.B.)	Président
Mr. B.Y. MEKLATI	Professeur (U.S.T.H.B.)	Examineur
Mme S. GUERMOUCHE	Professeur (U.S.T.H.B.)	Examineur
Mr. A.Y. BADJAH HADJ AHMED	Professeur (U.S.T.H.B.)	Examineur
Mr. S. SEBIH	Maître de conférences (U.S.T.H.B.)	Examineur
Mr. M. HADJ-MAHAMMED	Maître de conférences (université d'Ouargla)	Examineur
Mr. A. TOUABET	Professeur (U.S.T.H.B.)	Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle de la Faculté de Chimie à l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene sous la direction de Monsieur A.TOUABET, Professeur à l'U.S.T.H.B. Je tiens tout particulièrement à le remercier de m'avoir proposé ce sujet, et de m'avoir constamment guidé tout au long de ce mémoire. Je lui suis par ailleurs très reconnaissante pour la liberté qu'il m'a accordée dans les orientations et l'organisation de mon travail, et pour la confiance qu'il m'a toujours témoignée.

Je prie Monsieur M. MOUZALI, Professeur à l'USTHB, pour l'honneur qui me fait de présider le jury de thèse, d'accepter mes plus vifs remerciements.

Ma gratitude va également à Monsieur B.Y. MEKLATI et Madame S.GUERMOUCHE, Professeurs à l'U.S.T.H.B ainsi que Monsieur S. SEBIH, Maître de conférences à L'USTHB, qui m'ont fait l'honneur d'examiner ce document et de faire partie du jury.

Je tiens à remercier très chaleureusement Messieurs A.Y. BADJAH HADJ AHMED, Professeur à l'USTHB ainsi que Monsieur M. HADJ-MAHAMMED maître de conférences à l'université d'Ouargla, pour leur aide morale et pratique ainsi que pour avoir accepté de participer au jury.

Ce travail n'aurait pu être réalisé sans la collaboration précieuse et chaleureuse de Monsieur le professeur W.ENGEWALD, Directeur de Recherche à l'Institut de Chimie Analytique (Université de Leipzig, Allemagne). Je tiens à le remercier très vivement pour les conseils éclairés, les encouragements qu'il m'a sans cesse prodigués ainsi que de m'avoir permis de profiter de sa compétence et d'avoir mis à ma disposition tous les instruments d'analyse lors de mes séjours à Leipzig.

Je remercie sincèrement Monsieur le professeur S.BERGER, Directeur de l'Institut de Chimie Analytique (Leipzig, Allemagne) de m'avoir accueilli plusieurs fois dans son laboratoire et de m'avoir autorisé à travailler durant les « week-ends » et les jours fériés en toute liberté.

Je voudrais également remercier mes collègues du Laboratoire et ceux de l'Ecole Nationale Polytechnique pour l'atmosphère qu'ils ont su créer et pour les encouragements qu'ils m'ont toujours manifestés.

Je dédie enfin ce travail à ma famille pour la patience, le soutien moral et les encouragements qu'elle n'a cessé de me prodiguer tout au long de ma formation.

SOMMAIRE

Introduction Générale	1
<u>CHAPITRE I</u> : Rétrospective bibliographique des méthodes d'estimation du temps mort en CLHP	
I.1. Introduction.	5
I.2. Travaux antérieurs.	5
I.2.1. Méthodes directes.	5
I.2.1.A. Méthode statique.	6
I.2.1.B. Méthode dynamique.	6
I.2.1.C. Utilisation des solutés supposés non retenus.	6
I.2.1.D. Méthode théorique.	7
I.2.2. Méthodes indirectes.	7
I.2.2.A. Méthodes graphiques.	8
I.2.2.B. Méthode classique.	8
I.2.2.C. Méthodes statistiques.	9
I.2.2.D. Méthode itérative.	11
I.3. Conclusion.	13
<u>CHAPITRE II</u> : Evaluation d'une méthode mathématique pour la détermination des données de rétention en CLHP	
II.1. Introduction.	15
II.2. Méthode de régression multiparamétrique aux moindres carrés.	19
II.2.A. Les expériences.	20
II.2.B. Choix d'une méthode de modélisation.	20
II.2.C. Estimations des paramètres du modèle.	21
II.2.D. Résolution du système.	22
II.2.E. Critères statistiques.	24
II.2.F. Utilisation des résultats de la régression.	25
II.3. Illustrations pratiques des résultats.	27
II.4. Linéarité du tracé de $\ln k'$ en fonction de Z de dix séries homologues.	35
II.5. Conclusion.	38
<u>CHAPITRE III</u> : Application de la méthode multiparamétrique à la détermination du temps mort de la colonne	
III.1. Introduction.	48
III.2. Résultats et discussion.	49
III.2.1. Détermination des paramètres t_M et B par trois méthodes mathématiques.	49
III.2.2. Influence du nombre d'homologues d'une même série sur la variation de t_M et B.	53
III.2.3. Influence des conditions chromatographiques de séparation sur la variation de t_M et B.	55
III.2.3.A. Influence de la composition de la phase mobile.	55
III.2.3.B. Effet de la température de la colonne.	62
III.2.3.C. Influence de la nature du matériau de remplissage de la colonne.	66
III.3. Conclusion.	68

CHAPITRE IV : Application de la méthode multiparamétrique au calcul des indices de rétention

IV.1. Introduction.	70
IV.2. Méthodes de calcul des indices de rétention.	70
IV.3. Résultats et discussion.	73
IV.3.1. Comparaison des indices de rétention des composés organiques nitrés déterminés par quatre méthodes mathématiques.	73
IV.3.2. Influence des conditions chromatographiques de séparation sur la variation des indices de rétention des composés nitrés.	77
IV.3.2.A. Influence de la phase mobile.	77
IV.3.2.B. Effet de la température de la colonne.	81
IV.3.2.C. Influence de la nature du matériau de remplissage de la colonne.	83
IV.4. Conclusion.	85

CHAPITRE V : Analyse qualitative des composés organiques nitrés par CLHP avec double détection (UV/EC)

V.1. Introduction.	87
V.2. Analyse par CLHP des composés organiques nitrés.	89
V.2.1. Mise au point d'une méthode de séparation à l'aide du logiciel DryLab.	90
V.2.2. Résultats et discussion.	91
V.2.2.A. Effet de la composition de la phase mobile et du pH sur la séparation.	91
V.2.2.B. Corrélation entre les résultats expérimentaux et ceux simulés par le logiciel DryLab	94
V.2.2.C. Influence de la nature de la colonne sur la séparation.	101
V.3. Analyse par CLHP avec double détection (UV/EC) d'un échantillon d'eau polluée.	107
V.3.1. Echantillonnage et extraction.	107
V.3.2. Détection des composés organiques nitrés.	109
V.3.3. Résultats et discussion.	110
V.4. Conclusion.	113

Conclusion Générale	115
----------------------------	-----

Bibliographie	117
----------------------	-----

Partie Expérimentale	123
-----------------------------	-----

Annexes	
----------------	--

I.1. Introduction :

En chromatographie, le temps de rétention (t_{Ri}) caractérise qualitativement une substance donnée. Cette grandeur de rétention ne doit pas être utilisée directement car il faut tenir compte du volume libre laissé par la phase stationnaire fixe ainsi que des petits volumes supplémentaires dus à la chambre d'injection, au détecteur et à la tuyauterie de raccordement dont l'ensemble constitue le volume mort du système chromatographique (v_M). Ces volumes morts sont minimisés mais ne peuvent être complètement éliminés. En tenant compte de ses derniers, on définit le volume de rétention corrigé ou le temps de rétention corrigé (pour un débit de phase mobile donné) par l'équation **I1** :

$$t'_R = t_R - t_M \quad \text{(I1)}$$

Le temps mort (t_M) serait donc, le temps mis par un soluté pour traverser le système chromatographique sans être retenu ou exclu par les particules de la phase stationnaire. Le temps de rétention corrigé (t'_R) est le paramètre chromatographique de base utilisé dans l'établissement de plusieurs grandeurs de rétention, telles que : les facteurs de rétention (k') et les indices de rétention (I). L'évaluation correcte de toutes ces données de rétention est conditionnée par une estimation exacte des valeurs du temps mort de la colonne.

En CLHP, plusieurs controverses ont été développées dans la littérature quant au choix de la meilleure technique à utiliser pour la détermination du temps mort.

En premier lieu, nous tâcherons de faire le point sur les travaux antérieurs concernant les différentes méthodes d'estimation du temps mort de la colonne en CLHP afin d'avoir une meilleure approche des problèmes rencontrés.

I.2. Travaux antérieurs :

Les travaux concernant la détermination du temps mort en CLHP peuvent être divisés en deux catégories principales:

I.2.1. Méthodes directes :

Plusieurs techniques de mesure directe (expérimentales) ont été proposées dans la littérature pour la détermination du temps mort de la colonne [12-37]. Nous donnons les grandes lignes de quelques méthodes.

1.2.1.A. Méthode statique :

La mesure du temps mort selon la technique de Slaats et coll. [12], consiste à remplir séparément la colonne par deux solvants de densité suffisamment différente l'une de l'autre (exemple : tétrahydrofurane et méthanol). A chaque fois, la colonne est scellée et par la suite pesée. Le volume total occupé par la phase mobile est ensuite calculé par l'équation I2 :

$$V_M = \frac{w_1 - w_2}{\rho_1 - \rho_2} \quad \text{(I2)}$$

où w_1 et w_2 désigne le poids de la colonne contenant chacun des deux solvants séparément. ρ_1 et ρ_2 représentent les densités des deux solvants à la température de mesure.

Cependant, certains auteurs ont fait remarquer dans leurs travaux que le procédé ne prend pas en considération le fait que la phase stationnaire soit en partie solvatée par la phase mobile [13-15]. En conséquence, cette méthode mesure une limite supérieure de la valeur du volume mort (la porosité de la colonne) et non pas la valeur exacte.

1.2.1.B. Méthode dynamique :

La méthode consiste à utiliser un des solvants constituant la phase mobile pour déterminer le temps mort de la colonne : à titre d'exemple, les solvants comme l'eau, le méthanol ou l'acétonitrile pour des phases mobiles binaires (acétonitrile-eau ou méthanol-eau) [16-22]. Les homologues marqués par des isotopes, comme l'eau lourde ou le méthanol deutérié ont été également utilisés [23-28]. Néanmoins, l'utilisation d'un détecteur réfractomètre est indispensable pour la détection de ce type de composés.

1.2.1.C. Utilisation des solutés supposés non retenus :

Cette technique consiste à utiliser un soluté supposé non retenu et également non exclu par la phase stationnaire. Pour qu'un soluté puisse être utilisé pour une détermination expérimentale du temps mort de la colonne, il doit vérifier différents critères d'appréciation :

- Le soluté ne doit pas être retenu par la phase stationnaire ni passer à travers la colonne plus vite que la vitesse linéaire moyenne de la phase mobile.
- Le soluté ne doit pas être exclu par les particules de la phase stationnaire. Il doit être libre de pénétrer dans les pores des particules de cette dernière.
- Le soluté ne doit pas modifier la distribution ou la composition de la phase mobile dans la phase stationnaire.

Plusieurs composés organiques polaires ont été occasionnellement utilisés afin de déterminer expérimentalement le temps mort. Entre autres, nous citons l'utilisation de l'uracile, le N-N-diméthylformamide et l'acétone [21,29,30]. Des solutions de sels organiques ou inorganiques ont été également utilisées. Parmi ces derniers, nous citons le nitrate de sodium, le nitrite de sodium, le nitrate de lithium, le bichromate de potassium, le chlorure de sodium et le benzène sulfonate de sodium [13, 31-37].

Néanmoins, Berendsen et coll. [13] ont montré dans leurs travaux que, l'utilisation des sels inorganiques comme le nitrate de sodium, conduit à une sous-estimation de la valeur du temps mort. Ce dernier, lorsqu'il est injecté à une concentration faible, est exclu des pores des particules de la phase stationnaire par effet électrostatique, alors que, s'il est injecté à une concentration élevée (solution saturée), les pores deviennent accessibles et le phénomène de répulsion électrostatique sera supprimé.

1.2.1.D. Méthode théorique :

C'est une méthode simple qui repose sur une formule basée sur les caractéristiques géométriques de la colonne [38]. Pour une colonne ayant un diamètre interne de 4.6 mm et une longueur L, le volume mort (v_M) peut être déterminé par l'équation I3 :

$$V_M \approx 0.1 L \quad \text{(I3)}$$

Dans la littérature, l'utilisation des méthodes directes pour la détermination du temps mort ont suscité plusieurs divergences d'opinions [39-55]. Ces techniques sont soit expérimentalement difficiles soit à l'origine d'erreurs significatives et doivent être utilisées avec précaution.

1.2.2. Méthodes indirectes :

Ce sont des méthodes mathématiques basées sur la linéarisation des séries homologues. C'est dans le domaine de la CPG que l'on trouve le plus de travaux systématiques concernant la détermination du temps mort où plusieurs méthodes graphiques, statistiques et itératives ont été développées et regroupées dans des reviews [3-5]. La transposition de ces méthodes de la CPG à la CLHP a été entreprise par plusieurs auteurs et ceci afin de pallier les problèmes rencontrés par l'utilisation des méthodes directes [39-55]. Nous donnons les grandes lignes de quelques méthodes.

I.2.2.A. Méthodes graphiques :

• Neidhart et coll. [39,40] ont développé une méthode de détermination du temps mort à partir des temps de rétention bruts $t_{R(A)}$ et $t_{R(B)}$ de deux solutés (A) et (B) mesurés à deux températures différentes T_1 et T_2 . Ensuite, les valeurs de $t_{R(A)}$ et $t_{R(B)}$ sont tracées en fonction de T_1 et T_2 . Le point d'intersection des deux droites obtenues représente la valeur du temps mort de la colonne (**équation I4**), les solutés (A) et (B) étant respectivement la nonadrenaline et l'adrenaline. Afin de minimiser les erreurs sur la valeur du temps mort, l'intervalle entre T_1 et T_2 doit être le plus large possible.

$$t_M = \frac{t_{R(A)}(T_1) \cdot t_{R(B)}(T_2) - t_{R(B)}(T_1) \cdot t_{R(A)}(T_2)}{t_{R(A)}(T_1) + t_{R(B)}(T_2) - t_{R(A)}(T_2) - t_{R(B)}(T_1)} \quad \text{(I4)}$$

$t_{R(A)}$ et $t_{R(B)}$: temps de rétention bruts des solutés (A) et (B) à une température T .

• Evans et Smith [41] ont suggéré une méthode qui consiste à tracer le logarithme des temps de rétention bruts (t_{Ri}) d'une série d'homologues en fonction du nombre d'atomes de carbone (Z). La linéarisation du tracé est réalisée en faisant varier par tâtonnement la valeur du temps mort. Cette méthode est imprécise, elle a été rapidement remplacée par d'autres méthodes de traitement des données.

I.2.2.B. Méthode classique :

Les méthodes classiques utilisées pour la détermination du temps mort nécessitent l'utilisation d'un nombre limité d'homologues et la résolution d'un petit nombre d'équation simple. En 1979 Al-Thamir et coll. [42] ont décrit une méthode applicable en CPG et en CLHP qui débute par une relation linéaire entre le temps de rétention corrigé (t'_R) et le nombre d'atomes de carbone (Z) (**équation I5**) et montre que ceci conduit à un rapport constant entre les différences successives de temps de rétention bruts (t_R).

$$\ln (t_{Rz} - t_M) = b.z + c \quad \text{(I5)}$$

$$t_{Rz} - t_M = e^{(b.z + c)} \quad \text{(I5.1)}$$

$$t_{Rz} = t_M + e^{(b.z + c)} \quad \text{(I5.2)}$$

$$t_{R(z+1)} = t_M + e^{(b.(z+1) + c)} \quad \text{(I5.3)}$$

$$t_{R(z+2)} = t_M + e^{(b.(z+2) + c)} \quad \text{(I5.4)}$$

$$\Delta t_{R(z, z+1)} = t_{R(z+1)} - t_{R(z)}$$

$$\Delta t_{R(z, z+1)} = e^{(b.(z+1) + c)} - e^{(b.(z) + c)}$$

$$\Delta t_{R(z, z+1)} = e^{(b \cdot z) + c} \cdot (e^b - 1) \quad (15.5)$$

De même

$$\begin{aligned} \Delta t_{R(z+1, z+2)} &= t_{R(z+2)} - t_{R(z+1)} \\ \Delta t_{R(z+1, z+2)} &= e^{(b \cdot (z+2) + c)} - e^{(b \cdot (z+1) + c)} \\ \Delta t_{R(z+1, z+2)} &= e^{(b \cdot (z+1) + c)} \cdot (e^b - 1) \end{aligned} \quad (15.6)$$

D'où

$$\frac{\Delta t_{R(z+1, z+2)}}{\Delta t_{R(z, z+1)}} = \frac{e^{(b(z+1)+c)} \cdot (e^b - 1)}{e^{(b(z)+c)} \cdot (e^b - 1)} = e^b \quad (16)$$

où (b) est la pente de l'équation 15.

$$b = \ln \frac{\Delta t_{R(z+1, z+2)}}{\Delta t_{R(z, z+1)}}$$

A partir de l'équation 15.5, la connaissance de la pente (b), permet d'atteindre l'ordonnée à l'origine (c) selon l'équation 15 :

$$c = \ln \left(\frac{\Delta t_{R(z, z+1)}}{e^b - 1} \right) - b \cdot z \quad (17)$$

d'où le t_M est calculé à partir de l'équation 15.1.

$$t_M = t_{R(z)} - e^{(b \cdot z + c)} \quad (18)$$

1.2.2.C. Méthodes statistiques :

- Ambrus [43] a présenté une méthode qui détermine à la fois le t_M et la pente (b) à partir d'une série d'homologues dans une seule régression linéaire. Quand les indices de Kováts sont demandés, l'ordonnée à l'origine ou intercept (c) peut être calculée soit à partir d'une seconde régression ou bien en faisant la moyenne d'une série de valeurs de (c) calculées à partir de chaque temps de rétention corrigé (t'_R). Le départ des calculs suppose admise la linéarité du tracé logarithmique. Une expression de la rétention relative peut être calculée comme suit :

$$\ln (t_{Rz} - t_M) = b \cdot z + c \quad (15)$$

$$t_{Rz} - t_M = e^{b \cdot z + c} \quad (15.1)$$

$$t_{R(z+1)} - t_M = e^{b \cdot (z+1) + c} = e^{b \cdot z} \cdot e^b \cdot e^c \quad (19)$$

$$\frac{t_{R(z+1)} - t_M}{t_{R(z)} - t_M} = \frac{e^{bz} \cdot e^b \cdot e^c}{e^{bz} \cdot e^c} = e^b \quad \text{(I10)}$$

qui est une constante que l'on désignera par (q) :

$$\text{d'où} \quad t_{R(z+1)} - t_M = q \cdot t_{Rz} - q \cdot t_M \quad \text{(I11)}$$

$$\text{soit} \quad t_{R(z+1)} = q \cdot t_{Rz} - B \quad \text{(I12)}$$

avec $B = t_M (q - 1)$. D'où une régression de $t_{R(z+1)}$ par rapport à t_{Rz} donnera la pente q (b peut être tiré en posant $b = \ln q$). B est l'ordonnée à l'origine de l'équation I11 et permet de tirer le t_M tel que : $t_M = B / (q - 1)$.

- Grobler et Balizs [44] ont développé une méthode qui repose sur l'utilisation de trois régressions linéaires effectuées sur les deux équations suivantes :

- La première est analogue à l'équation I5, elle relie la différence entre les temps de rétention au nombre (Z) d'atomes de carbone comme suit:

$$\ln(t_{R(z+1)} - t_{R(z)}) = b \cdot z + \ln A \quad \text{avec} \quad A = e^c (e^b - 1) \quad \text{(I13)}$$

Ainsi une régression linéaire dans l'équation I13 de $\ln(t_{R(z+1)} - t_{R(z)})$ par rapport à (Z) conduit à l'obtention de la pente (b).

$$b = (n - 1) \frac{\sum_{i=Z1}^{Z(n-1)} Z_i \ln(t_{R(i+1)} - t_{Ri}) - \sum_{Z1}^{Z(n-1)} Z_i \sum_{Zi}^{Z(n-1)} \ln(t_{R(i+1)} - t_{Ri})}{(n - 1) \sum_{i=Z1}^{Z(n-1)} Z_i^2 - (\sum_{i=Z1}^{Z(n-1)} Z_i)^2} \quad \text{(I14)}$$

- La seconde équation fait apparaître le temps mort et s'écrit de la manière suivante :

$$t_{R(z)} = t_M + A \cdot q^z \quad \text{avec} \quad A = e^c \quad \text{et} \quad q = e^b \quad \text{(I15)}$$

Ainsi une nouvelle régression linéaire de $\ln t_{R(x)}$ par rapport à (Z) peut être effectuée dans l'équation I15. On obtient alors :

$$t_M = \frac{\sum_{i=Z1}^{Zn} q_i^{Zi} - \sum_{i=Z1}^{Zn} t_{Ri} \cdot q_i^{Zi} - \sum_{i=Z1}^{Zn} q_i^{2Zi} \sum_{i=Zi}^{Zn} t_{Ri}}{(\sum_{i=Z1}^{Zn} q_i^{Zi})^2 - n \sum_{i=Z1}^{Zn} t_{Ri} \cdot q_i^{2Zi}} \quad \text{(I16)}$$

$$c = \frac{\sum_{i=Z1}^{Zn} \ln t' R_i - (b \sum_{i=Z1}^{Zn} Z_i)}{n} \quad \text{(I17)}$$

Les **équations 14, 16 et 17** permettent de calculer les indices de rétention de n'importe quel soluté à partir de l'**équation I18** :

$$I = 100 Z_i = 100 (\ln t'_R - c) / b \quad \text{(I18)}$$

Il est à noter que, la méthode de Grobler ne peut conduire à une bonne estimation du temps mort de la colonne pour une série homologue non consécutive.

I.2.2.D. Méthode itérative :

Guardino et Coll. [45] ont présenté une méthode dans laquelle une itération est faite sur le temps mort (t_M) à partir des valeurs calculées par la méthode des moindres carrés des paramètres de la régression (b et c) de l'**équation I5**.

$$\ln (t_{Rz} - t_M) = b.z + c \quad \text{(I5)}$$

Les valeurs optimales des trois paramètres (t_M , b et c) sont obtenues en minimisant la somme des carrés des différences entre les valeurs connues et calculées des indices de rétention. Néanmoins, il faut surveiller attentivement la différence des sommes consécutives des carrés et s'assurer qu'un changement de signe intervient avant que la somme des carrés ne devienne plus grande que la limite inférieure. Le programme ne doit pas être arrêté avant les deux premières itérations. Un point important à mentionner est que l'estimation initiale du t_M doit être inférieure au t_M mathématique réel sinon la méthode devient inadaptée. L'organigramme de la méthode est donné sur la **Figure 2**.

- Furr [46] a présenté un programme de calcul en BASIC, du temps mort et des indices de rétention, basé sur l'algorithme itératif de Guardino. Cet auteur a utilisé la série des n-alcanes pairs ($C_{24} - C_{30}$) pour le calcul du temps mort et des indices de rétention des alkylphénones et des rétinylesters en CPG et en CLHP.

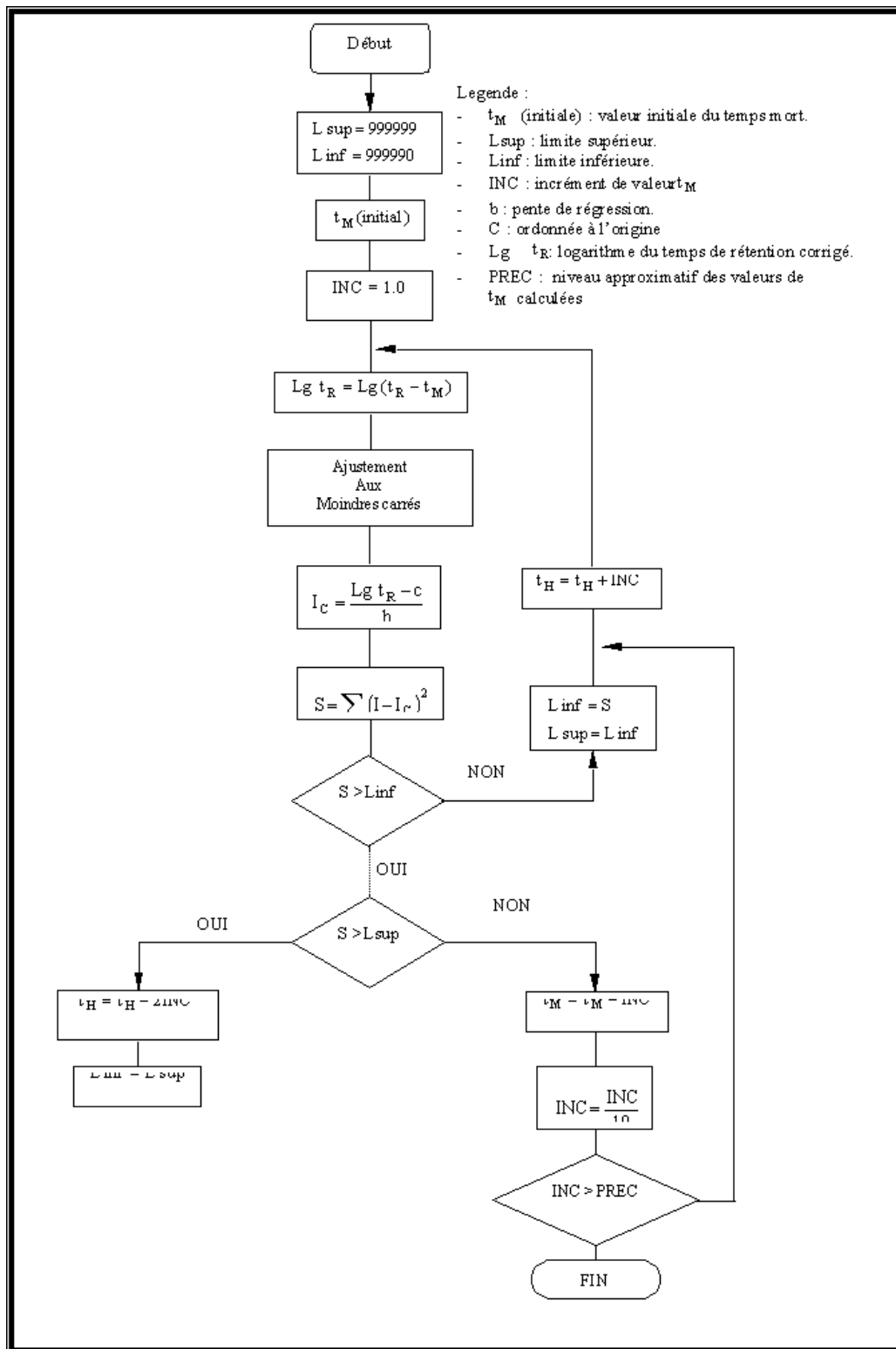


Figure 2: Algorithme de la méthode de Guardino.

I.3. Conclusion :

Les méthodes directes utilisées pour la détermination du temps mort en chromatographie sont soit expérimentalement difficiles soit à l'origine d'erreurs significatives. Ces méthodes doivent être utilisées avec précaution.

Si le but recherché est analytique, les méthodes indirectes et en particulier les méthodes mathématiques basées sur la rétention des séries homologues sont les plus adaptées. Parmi celles-ci, la méthode statistique de Grobler et la méthode itérative de Guardino sont des méthodes acceptables. Cependant, la méthode de Grobler ne peut conduire à une bonne estimation du temps mort de la colonne pour une série homologue non consécutive et la méthode de Guardino nécessite une bonne estimation initiale de t_M , sinon elle peut conduire à des résultats erronés. De plus il est à remarquer qu'aucune des méthodes n'a proposé de critères pour apprécier la qualité de l'ajustement.

Dans ce travail, nous proposons une méthode simple et robuste dont les résultats de la régression sont donnés avec des écarts types sur les paramètres du modèle et des critères statistiques d'appréciation de l'ajustement.

II.1. Introduction :

Il est toujours difficile, pour une technique dont l'évolution a été très rapide, d'embrasser à un instant donné les différents domaines qu'elle recouvre et d'en définir des perspectives nouvelles. Cela nous paraît particulièrement vrai pour la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) dont le développement s'est poursuivi depuis une trentaine d'années. Les progrès considérables enregistrés dans ce domaine sont dus à la mise au point de détecteurs fonctionnant sur des principes variés et à l'utilisation des phases stationnaires poreuses de granulométrie fine et homogène. Grâce à ces performances, la CLHP est actuellement l'une des techniques les plus utilisées dans le domaine de la chimie analytique.

Dans l'analyse qualitative des mélanges complexes, l'utilisation des banques de données de la littérature est souvent considérée comme un artifice important dans l'identification des substances inconnues. Toutefois, l'utilisation exclusive des temps de rétention bruts (t_R) s'est révélée sujette à des déviations considérables. Afin d'obtenir la précision requise pour la comparaison des données inter-laboratoires, il est nécessaire de travailler avec des grandeurs de rétention corrigées par la connaissance du temps mort de la colonne (t_M). Le temps de rétention corrigé (t'_R), est la différence entre le temps de rétention brut et le temps mort de la colonne (t_M) (**équation II1**).

$$t'_R = t_R - t_M \quad \text{(II1)}$$

Le temps de rétention corrigé est le paramètre chromatographique de base utilisé dans l'établissement des grandeurs de rétention, telles que, les indices de rétention et les facteurs de rétention. En chromatographie, la relation empirique (**équation II2**) présumée linéaire est souvent admise et utilisée pour l'ajustement des temps de rétention bruts d'une série homologue.

$$\ln(t_{Ri} - t_M) = b.Z_i + c \quad \text{(II2)}$$

L'**équation II2** peut se mettre sous la forme suivante :

$$t_{Ri} = t_M + A.exp(B.Z_i) \quad \text{avec} \quad A = e^c \quad B = b.ln10 \quad \text{(II3)}$$

Sur la base de l'étude statistique de Wentworth [9], nous avons mis au point dans des travaux antérieurs, une méthode d'ajustement des valeurs expérimentales en CPG. Nous avons utilisé cette méthode en CPG [7-11,56-58] pour la détermination du temps mort de différentes colonnes ainsi que les indices de rétention d'un grand nombre de solutés oxygénés et hydroxylés. Cette étude a été effectuée en se basant sur la rétention de diverses séries

homologues aliphatiques et cycliques sur vingt colonnes classiques et capillaires à basses et hautes températures. La méthode a conduit à des temps de calcul courts pour l'obtention des paramètres (t_M , B et c) de haute qualité et des résultats corrects ont été obtenus sur le plan aussi bien théorique que pratique.

Dans ce travail, nous avons utilisé les conclusions de cette étude statistique réalisée en CPG pour extrapoler et adapter cette méthode de modélisation des données expérimentales en CLHP. En effet, nous avons développé une méthode d'ajustement multiparamétrique aux moindres carrés :

- Pour la détermination du temps mort de la colonne chromatographique.
- Pour le calcul des indices de rétention d'une vingtaine de composés nitrés [59-61].

Pour cela, nous avons utilisé dans ce travail la rétention de diverses séries homologues aliphatiques et aromatiques avec divers groupements fonctionnels (**Tableau II**) et plusieurs colonnes chromatographiques (**Tableau III**).

➤ **Organisation de l'étude :**

Dans ce présent chapitre, nous présenterons :

- D'une part, les différentes étapes de la régression et des exemples pratiques de calcul. Une dizaine de séries aliphatiques et aromatiques ont été analysées sous diverses conditions chromatographiques. La base de donnée des temps de rétention bruts recueillie, nous a permis d'obtenir une base de travail afin d'atteindre notre objectif.
- D'autre part, nous nous proposons de comparer les résultats obtenus pour l'obtention des paramètres t_M , B et c de l'**équation II3** par ce modèle mathématique aux méthodes statistiques et itératives de la littérature.

Comme nous l'avons déjà signalé précédemment, plusieurs méthodes de détermination du temps mort ont été proposées dans la littérature [3-5]. Certaines de ces méthodes ont été décrites succinctement dans le **chapitre I** de ce travail. Parmi celles-ci, nous avons retenu pour comparaison la méthode statistique de Grobler [44] et la méthode itérative de Guardino [45]. Mentionnons toutefois, que ces deux méthodes ont été utilisées dans de nombreux travaux en CLHP [46,49,54,55] en employant uniquement la série aliphatique des 2-cétones comme série de référence.

Tableau III : Liste des colonnes chromatographiques utilisées dans ce travail.

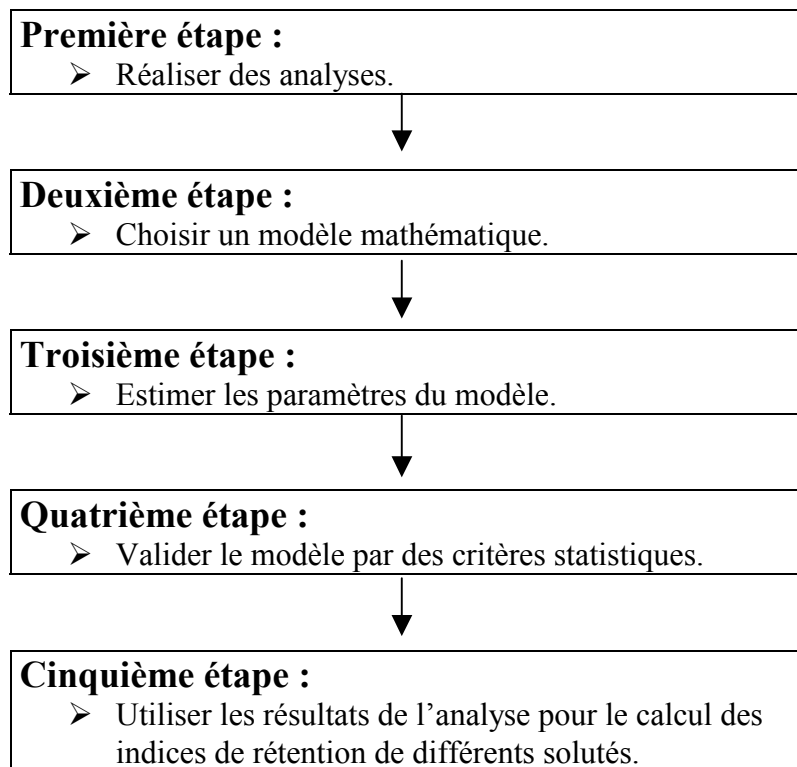
<u>Phase Stationnaire</u>	Matériaux de remplissage	Fabricant	Longueur (mm)	Diamètre interne (mm)	Dimension des Particules (µm)	Diamètre des pores ()
Octadécyle C₁₈	• Eurospher	Knauer	250	4.0	5	100
	• Nucléosil	Chrompack	250	4.6	5	100
	• Spherisorb-ODS2	Hewlett Packard	250	4.0	5	100
	• UltraSepESEX	SepServ	250	4.0	5	100
	• Nucléosil (100)	Macherey Nagel	250	4.0	5	100
	• Nucléosil (120)	Macherey Nagel	250	4.0	5	120
	• Nucléosil (densité élevée)	Macherey Nagel	250	4.0	5	100
	• Supelcosil	Supelco	250	4.6	5	100
	• µBondapak	Waters Associates	300	3.9	10	125
Octyle C₈	• Nucléosil (densité élevée)	Macherey Nagel	250	4.0	5	100
<u>Phényle</u>	• µBondapak	Waters Associates	300	3.9	10	125
<u>Nitrophényle</u>	• Cosmosil	Waters Associates	150	4.6	5	100
Carbone Graphite poreux	• Hypersil	Shandon	100	4.6	7	100

II.2. Méthode de régression multiparamétrique aux moindres carrés :

➤ Problématique :

L'un des avantages de déterminer le temps mort d'une colonne par le calcul est d'obtenir les paramètres de l'équation II3 avec leurs écarts types afin de déterminer des grandeurs de rétention, telles que, les facteurs de rétention et les indices de rétention.

Avant de commencer à étudier une régression, il est important de comprendre que le but de n'importe quelle analyse utilisant une méthode d'ajustement, est de trouver un modèle correct pour décrire le rapport entre une variable dépendante et un ensemble de variables indépendantes. L'un des problèmes qui se pose au chromatographe, est le choix d'un modèle mathématique pour la modélisation des valeurs expérimentales. D'une façon générale on peut représenter un modèle mathématique sous la forme : $Y = f(x, p_1, p_2, \dots, p_p)$ à « p » paramètres. Ce modèle doit permettre d'approcher au mieux les valeurs expérimentales selon un critère prédéfini. La démarche que nous avons suivie pour analyser nos valeurs expérimentales comprend cinq étapes :



➤ **Développement :**

Nous nous proposons dans un premier lieu, de présenter la conception des cinq étapes dans le cas de la technique chromatographique liquide à haute performance (CLHP).

II.2.A. Les expériences :

Les temps de rétention bruts (t_{Ri}) sont obtenus expérimentalement. Ils sont obtenus dans les mêmes conditions expérimentales en effectuant : NI injections d'une série de N homologues. Les différents traitements statistiques s'opéreront sur cette matrice (N x NI). On calcule les grandeurs statistiques suivantes :

- **la moyenne des temps de rétention bruts (t_{Ri}) :**

$$\bar{t}_{Ri} = \sum_{j=1}^{NI} t_{Rij} / NI \quad (II4)$$

- **L'estimation de l'écart type s (t_{Ri}) des temps de rétention bruts :**

$$s(t_{Ri}) = \sqrt{\sum_{j=1}^{NI} (t_{Rij} - \bar{t}_{Ri})^2 / (NI - 1)} \quad (II5)$$

II.2.B. Choix d'une méthode de modélisation :

Le modèle choisi doit permettre de se rapprocher le plus près des valeurs expérimentales. Cinq modèles ont été relevés dans la littérature [3-5] :

Modèles	Nombre de paramètres	Equations
Linéaire	3	$t_{Ri} = t_M + A \cdot \exp(B \cdot Z_i)$
Parabolique	4	$t_{Ri} = t_M + A \cdot \exp(B \cdot Z_i + D Z_i^2)$
Cubique	5	$t_{Ri} = t_M + A \cdot \exp(B \cdot Z_i + D \cdot Z_i^2 + E \cdot Z_i^3)$
Hyperbolique	4	$t_{Ri} = t_M + A \cdot \exp(B \cdot Z_i + D / Z_i)$
Hyperbolique du second degré	5	$t_{Ri} = t_M + A \cdot \exp(B \cdot Z_i + D / Z_i + E / Z_i^2)$

L'ajustement des cinq modèles mathématiques a été testé sur les valeurs expérimentales que nous avons obtenues en CLHP et cela pour les dix séries homologues (**Tableau II**) sur diverses colonnes (**Tableau III**) et sous différentes conditions de séparation chromatographique. L'acceptation ou le rejet d'un modèle donné est basé sur des critères statistiques.

Sur l'ensemble des traitements mathématiques qui ont été effectués, le modèle linéaire est rarement rejeté, comme nous le montrerons ultérieurement dans un exemple.

Quand le modèle linéaire est rejeté, les modèles hyperbolique et parabolique montrent des paramètres parfaitement bien définis et des valeurs du chi-deux raisonnables à l'intérieur de l'intervalle de confiance. Cependant le critère du chi-deux est impuissant à détecter un modèle de degré élevé. Dans d'autres cas, les valeurs calculées pour ce critère ne sont pas suffisantes à elles seules pour affirmer qu'un modèle est correct. En effet, dans la plupart des cas la valeur du chi-deux obtenue est comprise dans l'intervalle de confiance correspondant, alors que pour certains paramètres du modèle choisi, l'écart type est supérieur à la valeur du coefficient lui-même. De plus, les résultats que nous avons obtenus ne nous permettent pas de tirer des conclusions formelles quant au modèle adéquat au calcul des indices de rétention. Sur la base de ces observations, nous avons retenu pour l'ensemble de notre travail le **modèle linéaire**.

II.2.C. Estimations des paramètres du modèle :

Pour que le modèle soit exploitable statistiquement, il est nécessaire de considérer dans toute notre démarche, que le nombre d'atomes de carbone $Z(I)$ est une variable connue sans erreur donc son écart type est nul ($s(Z(I)) = 0$).

Si la variable $Z(I)$ est supposée parfaitement déterminée, les valeurs des (\hat{t}_{Ri}) qui constituent une estimation des valeurs exactes sont inaccessibles par l'expérience, on définit donc un résidu :

- **Le résidu (F_i) :**

Le résidu est défini comme étant la différence entre les temps de rétention moyens expérimentaux (\bar{t}_{Ri}) et les temps de rétention calculés (\hat{t}_{Ri}) .

$$F_i = (\bar{t}_{Ri} - \hat{t}_{Ri}) \quad \text{(II6)}$$

- soit pour le modèle linéaire : $F_i = \bar{t}_{Ri} - (t_M + A.exp(B.Z_i))$

- soit mathématiquement : $F_i = \bar{Y}(I) - (P_1 + P_2 exp(P_3 . Z(I)))$

Avec Z_i et $Z(I)$ nombre d'atomes de carbone; \bar{t}_{Ri} et $\bar{Y}(I)$ temps de rétention bruts moyens; P_1, P_2 et P_3 les paramètres du modèle.

Si le modèle est parfait et les erreurs expérimentales nulles, le résidu doit tendre vers une valeur nulle. Son écart type $s(F_i)$ est défini comme suit :

$$s(F_i) = s(\bar{t}_{Ri}) = \hat{s}(t_{Ri}) / \sqrt{NI} \tag{II7}$$

II.2.D. Résolution du système :

Le critère du moindre carré pondéré selon les variances cherche à minimiser la somme (équation II8) :

$$\chi^2_v = \sum_{i=1}^N \frac{F_i^2}{S^2(F_i)} \tag{II8}$$

Avec $s^2(F_i)$: la variance ; $v = (N-P)$: le nombre de degrés de liberté ; P : le nombre de paramètres contenu dans le modèle et N : le nombre de constituants.

On établit donc un système de P équations à P inconnues dont la résolution par la méthode des pivots, nous a permis de déterminer les paramètres du modèle choisi. Celle-ci fait appel à un calcul itératif.

On obtient la matrice $\mathbf{P} \times \mathbf{P}$ suivante :

$$\begin{aligned} \Delta P_1 \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_1}\right) \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_1}\right) \frac{1}{v(I)} + \Delta P_2 \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_2}\right) \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_1}\right) \frac{1}{v(I)} + \dots = - \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial F^\circ(I)}{v(I)}\right) \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_1}\right) \\ \Delta P_1 \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_1}\right) \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_2}\right) \frac{1}{v(I)} + \Delta P_2 \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_2}\right) \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_2}\right) \frac{1}{v(I)} + \dots = - \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial F^\circ(I)}{v(I)}\right) \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_2}\right) \\ \Delta P_1 \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_1}\right) \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_3}\right) \frac{1}{v(I)} + \Delta P_2 \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_2}\right) \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_3}\right) \frac{1}{v(I)} + \dots = - \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial F^\circ(I)}{v(I)}\right) \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_3}\right) \\ \Delta P_1 \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_1}\right) \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_P}\right) \frac{1}{v(I)} + \Delta P_2 \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_2}\right) \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_P}\right) \frac{1}{v(I)} + \dots = - \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial F^\circ(I)}{v(I)}\right) \left(\frac{\partial F(I)}{\partial P_P}\right) \end{aligned}$$

Exemple : Si on prend le modèle linéaire (3 paramètres) :

$$\hat{Y}(I) = P_1 + P_2 \exp(P_3 \cdot Z(I))$$

Le résidu s'écrit: $F(I) = \bar{Y}(I) - (P_1 + P_2 \exp(P_3 \cdot Z(I)))$

La matrice s'écrit alors :

$$\begin{aligned} \Delta P_1 \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_{P_1} \cdot F_{P_1}}{L} \right) + \Delta P_2 \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_{P_2} \cdot F_{P_1}}{L} \right) + \Delta P_3 \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_{P_3} \cdot F_{P_1}}{L} \right) &= - \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_{P_1} \cdot F}{L} \right) \\ \Delta P_1 \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_{P_1} \cdot F_{P_2}}{L} \right) + \Delta P_2 \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_{P_2} \cdot F_{P_2}}{L} \right) + \Delta P_3 \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_{P_3} \cdot F_{P_2}}{L} \right) &= - \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_{P_2} \cdot F}{L} \right) \\ \Delta P_1 \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_{P_1} \cdot F_{P_3}}{L} \right) + \Delta P_2 \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_{P_2} \cdot F_{P_3}}{L} \right) + \Delta P_3 \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_{P_3} \cdot F_{P_3}}{L} \right) &= - \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_{P_3} \cdot F}{L} \right) \end{aligned}$$

Avec les dérivées :

- Dérivée par rapport à P_1 : $F_{P_1} = \frac{\partial F(I)}{\partial P_1} = -1$

- Dérivée par rapport à P_2 : $F_{P_2} = \frac{\partial F(I)}{\partial P_2} = -\exp(P_3 \cdot Z(I))$

- Dérivée par rapport à P_3 : $F_{P_3} = \frac{\partial F(I)}{\partial P_3} = -P_2 \cdot Z(I) \cdot \exp(P_3 \cdot Z(I))$

et

$$L = \text{sy}(I)^2$$

A chaque itération les paramètres sont corrigés selon l'équation: $P_j = P_j^0 + \Delta P_j$

a) Initialisation du système :

Pour les premières approximations $P^0_1, P^0_2, \dots, P^0_p$, nous avons retenu les initialisations suivantes : $P_1 = Y(I)$ minimum qui sera le temps de rétention le plus petit ; $P_2 = 1$ et $P_3 = 1$.

b) Test de convergence :

Un test de convergence est appliqué. Le calcul est arrêté en effectuant un test sur le paramètre prédominant. Le test choisi est donné par la formule :

$$(P_1^0 - P_1) / P_1 < 10^{-5}$$

II.2.E. Critères statistiques :

Le modèle étant choisi, le calcul fournit un jeu de paramètres. Pour évaluer la qualité de l'ajustement, il convient d'examiner si ce modèle est adéquat. Il est important de réaliser qu'une régression proposera toujours des valeurs pour les paramètres. L'analyse statistique permettra généralement d'éviter une interprétation abusive des résultats issus du calcul. Elle dépend de l'usage que l'on fait de la régression :

- Soit la reconstitution des temps de rétention expérimentaux.
- Soit l'extrapolation des valeurs expérimentales.
- Soit l'estimation précise des paramètres d'un modèle.

La pertinence du choix du modèle a été examinée selon trois critères statistiques.

1) Un critère global (test du chi-deux) :

Le résidu de la minimisation ne doit pas excéder la valeur critique (maximum) tirée des tables au niveau de confiance α choisi. Dans notre étude le niveau $\alpha = 0.05$ correspondant à une probabilité supérieure à 95 % a été retenu.

$$\chi^2_{N-P} < \chi^2_v \text{ (max. tiré des tables)}$$

2) Un critère sélectif (écarts types sur les paramètres) :

Un paramètre du modèle n'est significatif que s'il est en valeur absolue nettement plus grand que son écart type. L'écart type est utilisé pour construire un intervalle de confiance au niveau α selon le procédé habituel de Student (t) [62].

$$t_M - t. s(t_M) < t_M < t_M + t. s(t_M)$$

3) Le critère de l'erreur résiduelle :

L'erreur résiduelle ou l'écart type résiduel, mesure une dispersion moyenne. Elle doit correspondre en ordre de grandeur à l'erreur moyenne sur les temps de rétention (t_{Ri}) ou sur les indices de rétention des solutés de référence.

$$S(t_{Ri}) = \sqrt{\sum_{i=1}^N (t_{Ri}(\text{exp}) - t_{Ri}(\text{cal}))^2 / (N - P)} \quad \text{(II10)}$$

$$S(I) = \sqrt{\sum (I(cal) - 100Z)^2 / (N - P)} \quad \text{(III1)}$$

Avec N: nombre d'homologues ; P: nombre de paramètres

Le modèle est jugé acceptable si $S(t_{Ri})$ et $S(I)$ sont faibles.

- **Calculs :**

Toutes les étapes de calcul ont été écrites en langage BASIC et effectuées sur un micro ordinateur PIII. Le programme délivre un rapport complet lors de la régression sur les données expérimentales [10,11].

L'algorithme de la méthode multiparamétrique est donné sur la **Figure 3**.

II.2.F. Utilisation des résultats de la régression :

a) Les temps de rétention calculés $Y(I)_{calc}$:

Les paramètres du modèle sont obtenus avec leurs écarts types. A partir de ces valeurs, on peut recalculer les valeurs $Y(I)$ pour les comparer avec les valeurs expérimentales.

Si on considère le modèle linéaire, en injectant les valeurs des paramètres on obtient :

$$Y(I)_{calc} = P_1 + P_2 \exp (P_3 \cdot Z(I)) \quad \text{(III2)}$$

$$Y'(I) = Y(I)_{calc} - P_1 \quad \text{(III3)}$$

b) Calcul des indices de rétention :

Dans la littérature, il est courant quand on utilise un modèle comme fonction, de recalculer les indices de rétention des composés de référence afin d'estimer l'ajustement. En CPG, sous des conditions isothermes l'indice de rétention d'un composé donné peut être défini comme étant égal à 100 fois le nombre d'atomes de carbone d'un soluté hypothétique de référence qui aurait le même temps de rétention :

$$I(I) = 100 \cdot Z(I) \quad \text{(III4)}$$

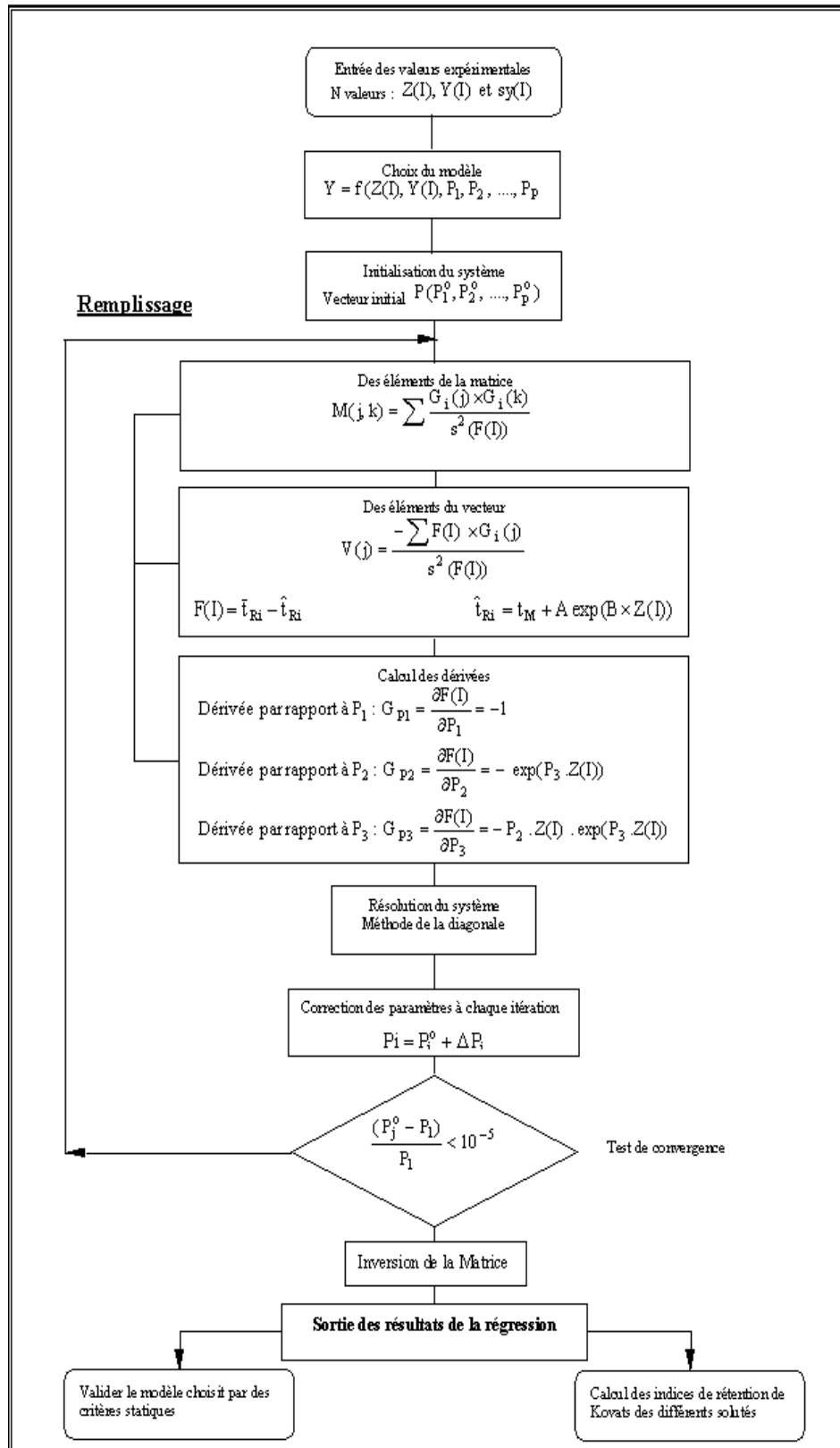


Figure 3: Algorithme de la méthode multiparamétrique.

II.3. Illustrations pratiques des résultats :

➤ **Premier exemple :**

En se basant sur les données expérimentales de la série aliphatique des 2-cétones, nous donnons une illustration pratique concernant la détermination des paramètres (t_M , B et c) par la méthode multiparamétrique [10,11]. Afin de vérifier la validité de notre méthode, nous comparerons à chaque fois les résultats obtenus par la multiparamétrique (MP) avec ceux obtenus par les méthodes de Grobler (GR) [44] et de Guardino (GU) [45]. Le modèle linéaire a été retenu dans cet exemple.

• **Mesure des temps de rétention bruts (t_{Ri}) :**

Pour chaque série homologue, quatre injections consécutives ont été effectuées. Nous obtenons ainsi, quatre valeurs de temps de rétention bruts expérimentaux (t_{Ri}). Les temps de rétention pris en considération sont les moyennes mesurées sur les quatre essais ainsi que leurs écarts types. Nous obtenons pour l'ensemble des solutés de la série, les temps de rétention expérimentaux moyens et les écarts types (entre parenthèses).

Nous donnons à titre d'exemple, les valeurs des temps de rétention expérimentaux de la série des 2-cétones obtenues sur la colonne Eurospher C₁₈ pour une composition de la phase mobile 65:35 (v/v) en méthanol-eau.

	Nombre de carbones	Valeurs des temps de rétention expérimentaux t_{Ri} en minutes				
	Z_i	t_{R1}	t_{R2}	t_{R3}	t_{R4}	$\bar{t}_{Ri}(\text{exp})$
<u>2-Cétones:</u>						
Butanone	4	2.760	2.743	2.755	2.750	2.752 (0.0036)
Pentan-2-one	5	3.555	3.520	3.573	3.571	3.554 (0.0122)
Hexan-2-one	6	5.133	5.100	5.164	5.163	5.140 (0.0151)
Heptan-2-one	7	8.352	8.340	8.330	8.333	8.338 (0.0048)
Octan-2-one	8	14.706	14.601	14.674	14.670	14.662 (0.0221)
Nonan-2-one	9	27.325	27.300	27.286	27.227	27.284 (0.0200)

Après la régression, les trois paramètres (t_M , B et c) obtenus par les trois méthodes (MP, GU et GR) ainsi que les temps de rétention calculés sont donnés avec leurs écarts types.

	Paramètres de la régression		
	Multiparamétrique	Guardino	Grobler
• Temps mort (t_M)	1.940 (0.005)	1.943	1.946
• Pente (B)	0.688 (0.001)	0.689	0.688
• Intercept (c)	- 2.963 (0.001)	-2.969	- 1.292

• **Signification des paramètres de la régression :**

La première étape dans ce type de processus est habituellement l'évaluation de la signification des variables du modèle. Nous allons examiner l'interprétation des paramètres d'un modèle par les critères statistiques.

Pour les résultats obtenus sur la colonne Eurosphere C₁₈, la construction des intervalles de confiance donne:

* Temps mort : $t_M = 1.940 (0.005)$

$$1.940 - (0.005 \times 3) < 1.940 < 1.940 + (0.005 \times 3)$$

* Pente B = 0.688 (0.001)

$$0.688 - (0.001 \times 3) < 0.688 < 0.688 + (0.001 \times 3)$$

* Intercept A = 0.051 (0.001) avec $A = e^c$

$$0.051 - (0.001 \times 3) < 0.051 < 0.051 + (0.001 \times 3)$$

En analysant les écarts types sur les trois paramètres (t_M , B et c), nous pouvons constater que ces derniers sont significatifs. Les critères statistiques sont satisfaisants pour le modèle linéaire.

• **Données de rétention calculées :**

Les coefficients estimés peuvent être utilisés pour une approche de nos valeurs expérimentales avec celles proposées par le calcul. Le rapport de la régression, nous donne les temps et les indices calculés de nos solutés de référence.

Les résultats obtenus par notre méthode, en l'occurrence les temps et les indices de rétention calculés des solutés de référence ainsi que les trois paramètres de la régression sont donnés avec leurs écarts types.

Temps de rétention calculés			
Méthode	Multiparamétrique	Guardino	Grobler
Butanone	2.751 (0.0034)	2.751	2.752
Pentan-2-one	3.554 (0.0029)	3.552	3.552
Hexan-2-one	5.153 (0.0032)	5.148	5.147
Heptan-2-one	8.336 (0.0045)	8.328	8.326
Octan-2-one	14.672 (0.0068)	14.662	14.662
Nonan-2-one	27.283 (0.1950)	27.280	27.293
Indices de rétention calculés			
Méthode	Multiparamétrique	Guardino	Grobler
Butanone	400.0 (0.890)	400.0	399.9
Pentan-2-one	499.9 (1.120)	500.1	500.1
Hexan-2-one	599.3 (0.700)	599.5	599.6
Heptan-2-one	700.0 (0.015)	700.2	700.2
Octan-2-one	799.8 (0.026)	799.9	799.9
Nonan-2-one	900.0 (0.016)	900.0	899.9

Les temps de rétention ainsi que les indices de rétention calculés par les trois méthodes mathématiques (multiparamétrique, Guardino et Grobler) sont en bon accord.

• **Signification des critères statistiques :**

Après chaque régression, le traitement donne un rapport qui contient les critères statistiques :

	Critères statistiques		
	Multiparamétrique	Guardino	Grobler
• Chi-deux (χ^2)	1.149	--	--
• Erreur résiduelle S(t_{Ri})	0.009	0.007	0.102
• Coefficient de corrélation (R²)	--	0.99999	--
• Erreur sur les Indices S(I)	0.373	0.275	0.361

- La valeur critique du chi-deux à trois degrés de liberté n'est pas atteinte.

$$\chi^2_{6-3} = \chi^2_3 = 1.149 \quad (\chi^2_{3(\max)} = 9.350)$$

- Concernant les trois méthodes (MP, GU et GR), les valeurs des erreurs résiduelles sur les temps de rétention calculés $S(t_{Ri})$ sont tout à fait satisfaisantes.

- Les valeurs des coefficients de corrélation montrent une bonne corrélation des valeurs expérimentales ($R^2 > 0.99999$).

- Les erreurs résiduelles sur les indices de rétention calculées pour chaque méthode sont satisfaisantes pour les trois méthodes.

L'ensemble des critères statistiques montre que le modèle choisi est acceptable.

➤ **Deuxième exemple :**

Nous avons appliqué les trois méthodes mathématiques (MP, GU et GR) à la série homologue des 2-cétones pour le calcul du temps mort et des paramètres du modèle sur trois colonnes différentes:

- La μ Bondapak C₁₈ (composition 55:45 (v/v) en acétonitrile-eau).
- La Nucléosil C₈ (composition 65:35 (v/v) en méthanol-eau).
- La μ Bondapak Phényl (composition 45:55 (v/v) en acétonitrile-eau).

Les temps de rétention expérimentaux moyens (\bar{t}_{Ri}) en minutes pour la série des 2-cétones sur trois colonnes sont les suivants :

Colonne	μ Bondapak C ₁₈	Nucléosil C ₈	μ Bondapak Phényl
	$\bar{t}_{Ri}(\text{exp})$	$\bar{t}_{Ri}(\text{exp})$	$\bar{t}_{Ri}(\text{exp})$
<u>2-Cétones:</u>			
Butanone	3.705 (0.024)	3.058 (0.046)	4.090 (0.005)
Pentan-2-one	4.237 (0.011)	3.659 (0.048)	4.685 (0.002)
Hexan-2-one	5.048 (0.006)	4.749 (0.053)	5.540 (0.011)
Heptan-2-one	6.273 (0.019)	6.753 (0.055)	6.725 (0.008)
Octan-2-one	8.135 (0.017)	10.270 (0.037)	8.320 (0.005)
	11.005 (0.006)	16.292 (0.016)	10.545 (0.020)

Nonan-2-one			
--------------------	--	--	--

Les résultats obtenus pour la série des 2-cétones sur les trois colonnes sont consignés dans le **Tableau IV**.

• **Signification des paramètres de la régression :**

Pour les résultats obtenus sur la μ Bondapak C₁₈ (**Tableau IV**), la construction des intervalles de confiance donne:

* $t_M = 2.705 (0.038)$

$2.705 - (0.038 \times 3) < 2.705 < 2.705 + (0.038 \times 3)$

* $B = 0.421 (0.004)$

$0.421 - (0.004 \times 3) < 0.421 < 0.421 + (0.004 \times 3)$

* $A = 0.186 (0.007)$ avec $A = e^c$

$0.186 - (0.007 \times 3) < 0.186 < 0.186 + (0.007 \times 3)$

En analysant les écarts types sur les trois paramètres (t_M , B et c), nous pouvons constater que ces derniers sont significatifs.

• **Données de rétention calculées :**

- Les temps de rétention ainsi que les indices de rétention calculés par les trois méthodes mathématiques (multiparamétrique, Guardino et Grobler) sont en bon accord.

• **Signification des critères statistiques :**

- Les valeurs des erreurs résiduelles sur les temps de rétention $S(t_{Ri})$ calculées pour chaque méthode sont tout à fait satisfaisantes pour les trois colonnes.

- Les erreurs résiduelles sur les indices de rétention $S(I)$ calculées pour chaque méthode sont satisfaisantes pour les trois colonnes.

- La valeur critique du chi-deux à trois degrés de liberté ($\chi^2_{3(max)} = 9.35$) n'est pas atteinte pour la colonne μ Bondapak C₁₈ ($\chi^2_3 = 0.826$) et la colonne Nucléosil C₈ ($\chi^2_3 = 2.422$). Néanmoins, nous constatons que la valeur du chi-deux obtenue sur la colonne μ Bondapak phényl dépasse la valeur critique permise ($\chi^2_3 = 13.349$). La valeur du chi-deux semble rejeter le modèle dans le cas de cette colonne. Cependant les valeurs des erreurs résiduelles sur les temps de rétention et les indices de rétention ainsi que les écarts types sur les paramètres sont

tout à fait satisfaisants. Ceci permet d'avancer que le modèle n'est pas rejeté dans le cas de la colonne μ Bondapak phényl si on prend pas en considération la valeur du chi-deux.

Afin de trouver une solution à ce problème, nous avons tracé le logarithme des temps de rétention corrigés ($\ln t'_R$) en fonction du nombre d'atomes de carbone (Z) pour la série des 2-cétones concernant les trois colonnes μ Bondapak phényl, μ Bondapak C₁₈, Nucléosil C₈ (**Figure 4**). Une bonne linéarité a été obtenue pour les 2-cétones sur les trois colonnes.

L'examen des différents critères statistiques (écarts types sur les paramètres, erreurs résiduelles sur les temps de rétention et erreurs résiduelles sur les indices de rétention) pour juger de la qualité d'un ajustement, permet d'avancer que le modèle choisi est acceptable dans ces conditions pour la série des 2-cétones sur les trois colonnes.

Il est à signaler que, nous avons constaté que les valeurs du chi-deux sont très sensibles aux valeurs des écarts types sur les temps de rétention expérimentaux. Ce résultat a été déjà signalé lors de nos travaux en CPG [8]. En conséquence, il s'avère que, la valeur du chi-deux n'est pas suffisante à elle seule pour affirmer qu'un modèle est adéquat ou non. En effet, dans certains cas, nous avons constaté que les valeurs du chi-deux obtenues étaient bien comprises dans l'intervalle de confiance correspondant aux tables, alors que les valeurs des écarts types sur les paramètres étaient nettement supérieures à ces derniers.

Dans ce travail, nous avons utilisé les valeurs des erreurs résiduelles sur les temps et/ou des indices de rétention et les écarts types sur les paramètres. Afin d'évaluer la qualité de l'ajustement, ces deux conditions doivent être satisfaites simultanément.

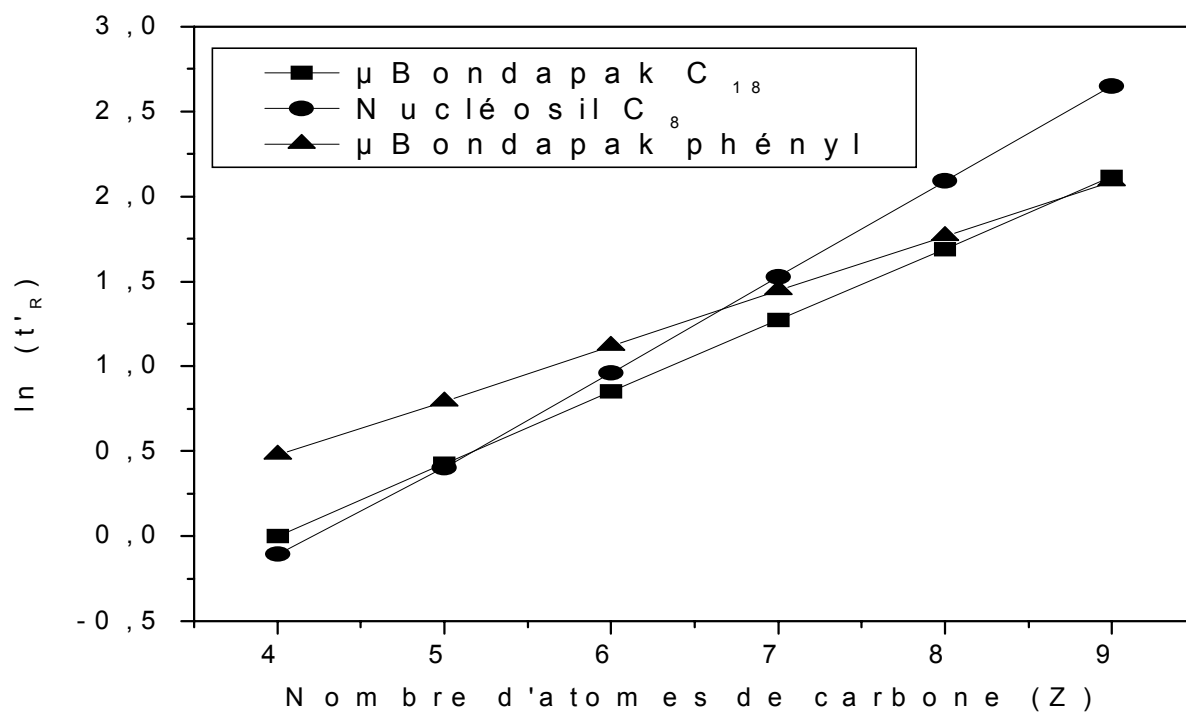


Figure 4 : $\ln t'_R$ en fonction de Z pour la série des 2-cétones sur 3 colonnes différentes.

Tableau IV: Résultats de la régression pour la série des 2-cétones obtenus par 3 méthodes mathématiques sur 3 colonnes différentes.

Colonne	μ Bondapak C ₁₈			Nucléosil C ₈			μ Bondapak Phényl		
	Temps de retention calculés t_{Ri} (cal)								
Méthode	MP ^a	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR
Butanone	3.711 (0.013)	3.705	3.705	3.024 (0.035)	3.055	3.059	4.077 (0.004)	4.086	4.088
Pentan-2-one	4.240 (0.007)	4.236	4.236	3.670 (0.027)	3.668	3.665	4.689 (0.002)	4.696	4.695
Hexan-2-one	5.045 (0.005)	5.044	5.044	4.800 (0.023)	4.762	4.752	5.535 (0.003)	5.539	5.536
Heptan-2-one	6.274 (0.008)	6.274	6.274	6.778 (0.028)	6.715	6.702	6.704 (0.004)	6.706	6.703
Octan-2-one	8.147 (0.009)	8.146	8.146	10.238 (0.030)	10.198	10.198	8.321 (0.004)	8.321	8.321
Nonan-2-one	11.004 (0.006)	10.994	10.994	16.293 (0.016)	16.414	16.469	10.557 (0.014)	10.555	10.564
	Indices de retention calculés I (cal)								
Méthode	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR
Butanone	398.3 (6.600)	399.8	399.8	406.8 (11.550)	400.6	399.6	402.3 (1.360)	400.7	400.3
Pentan-2-one	499.5 (2.110)	500.0	500.0	498.6 (6.650)	498.8	499.1	499.3 (0.510)	498.4	498.5
Hexan-2-one	600.2 (0.790)	600.3	600.3	596.4 (4.030)	599.0	599.7	600.4 (1.220)	600.0	600.3
Heptan-2-one	699.9 (1.400)	699.9	699.8	699.0 (1.060)	701.4	701.9	701.4 (0.710)	701.3	701.5
Octan-2-one	799.4 (0.870)	799.5	799.5	800.6 (1.060)	801.5	801.5	799.9 (0.390)	799.9	799.9
Nonan-2-one	900.0 (0.260)	900.2	900.3	899.9 (0.290)	898.4	897.8	899.5 (0.940)	899.5	899.2
	Paramètres de la régression								
• Temps mort (t_M)	2.705 (0.038)	2.688	2.687	2.162 (0.061)	2.273	2.295	2.479 (0.030)	2.495	2.518
• Pente (B)	0.421 (0.004)	0.419	0.419	0.559 (0.006)	0.579	0.583	0.323 (0.002)	0.324	0.326
• Intercept (c)	- 1.681 (0.007)	- 1.669	- 0.721	-2.387 (0.005)	-2.562	-1.131	-0.826 (0.012)	-0.834	-0.372
	Critères statistiques								
• Chi -deux (χ^2_v)	0.826	--	--	2.422	--	--	13.349	--	--
• Erreur résiduelle S(t_{Ri})	0.008	0.008	0.095	0.042	0.085	0.322	0.015	0.013	0.138
• Coefficient de corrélation (R^2)	--	0.99999	0.99999	--	0.99997	0.99997	--	0.99998	0.99998
• Erreur sur les Indices S(I)	1.045	0.397	1.416	4.574	1.776	1.975	1.669	1.272	1.331

a) (MP) : Méthode multiparamétrique [10,11] où les paramètres sont donnés avec leurs écarts types ;
 (GU) : Méthode de Guardino [45] ; (GR): Méthode de Grobler [44].

➤ **Troisième exemple :**

Dans cet exemple nous allons examiner le cas où le modèle linéaire est rejeté quand les critères statistiques d'appréciation de l'ajustement ne sont pas acceptables.

L'exemple que nous avons choisi pour illustrer ce cas, est celui de la série des alkylbenzènes (benzène-nonylbenzène) élués sur la colonne μ Bondapak C₁₈ (composition 60 :40 (v/v) en acétonitrile-eau). Le traitement des données expérimentales par la méthode multiparamétrique de la série aromatique des alkylbenzènes est donné dans le tableau suivant :

Colonne	μ Bondapak C ₁₈		
	\bar{t}_{Ri} (exp)	t_{Ri} (cal)	I (cal)
<u>Série des alkylbenzènes:</u>			
Benzène	6.570 (0.017)	6.619	589.4 (5.16)
Méthyl benzène	7.405 (0.049)	7.205	726.4 (6.37)
Ethyl benzène	9.695 (0.049)	8.092	915.3 (2.93)
Propyl benzène	10.230 (0.046)	9.435	944.1 (2.47)
Butyl benzène	12.260 (0.092)	11.469	1029.8 (3.35)
Pentyl benzène	13.155 (0.054)	14.548	1059.7 (1.83)
Hexyl benzène	13.885 (0.049)	19.209	1081.6 (1.53)
Heptyl benzène	27.170 (0.040)	26.266	1310.2 (0.51)
Octyl benzène	38.925 (0.031)	36.950	1414.6 (0.30)
Nonyl benzène	46.450 (0.086)	53.126	1463.6 (0.57)
Paramètres de la régression			
• Temps mort (t_M)	5.478 (0.022)		
• Pente (B)	0.414 (0.001)		
• Intercept (A)	0.094 (0.015)		
Critères statistiques			
• Chi-deux (χ^2_v)	24240.78		
• Erreur résiduelle S(t_{Ri})	3.452		
• Coefficient de corrélation (R^2)	--		
• Erreur sur les Indices S(I)	69.904		

En examinant les résultats obtenus pour la série aromatique des alkylbenzènes, il est clair que le modèle linéaire est à rejeter puisque l'erreur résiduelle sur les temps de rétention ainsi que l'erreur résiduelle sur les indices de rétention sont élevées, même si les paramètres de la

régression sont significatifs. Nous confirmons la non-linéarité du modèle par le tracé du logarithme des temps de rétention corrigés ($\ln t'_R$) en fonction du nombre d'atomes de carbone (Z) (**Figure 5**).

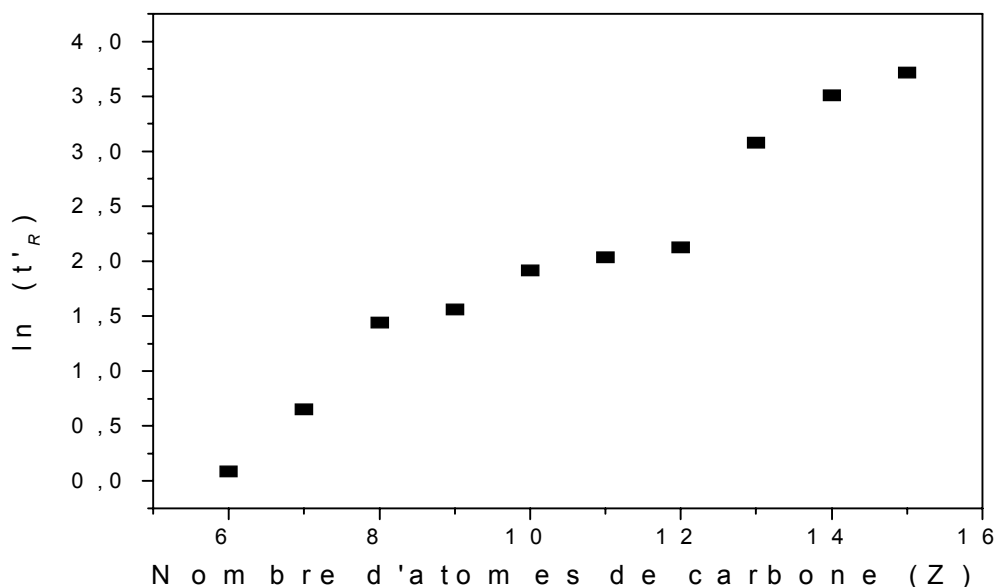


Figure 5: $\ln t'_R$ en fonction de Z pour la série aromatique des alkylbenzènes sur la colonne μ Bondapak C_{18} .

II.4. Linéarité du tracé de $\ln k'$ en fonction de Z de dix séries homologues :

En CLHP, les valeurs des facteurs de rétention sont utilisées pour caractériser et décrire la rétention d'un soluté donné. Ce paramètre peut être déterminé au moyen de la relation suivante (**équation III15**) :

$$k' = \frac{(t_R - t_M)}{t_M} \quad \text{(III15)}$$

Plusieurs travaux concernant l'étude de la rétention des séries homologues ont été publiés dans la littérature [63-73]. Nous citons à titre d'exemple, ceux de Tchapla et coll. [64,65] concernant l'étude de la linéarité du tracé du logarithme des facteurs de rétention ($\ln k'$) en fonction du nombre d'atomes de carbone (Z) de diverses séries homologues. D'après l'étude menée par ces derniers, pour une série donnée, le tracé n'est pas linéaire puisqu'il montre une cassure ou une discontinuité au point critique (Z') correspondant approximativement à une

longueur légèrement inférieure à celle du ligand de la phase stationnaire. Cette cassure apparaît plus clairement lorsqu'on trace les valeurs de la sélectivité (α) en fonction de (Z) pour des phases stationnaires monomériques. Ils attribuent ce résultat, à la pénétration de la chaîne alkyle du soluté « dans » la phase stationnaire.

Il est à mentionner que plusieurs exemples de la non-linéarité du tracé de ($\ln k'$) en fonction de (Z) ont été reportés dans la littérature [13,71]. Engelhardt et coll. [68,74,75] ont reporté que, le tracé de ($\ln k'$) en fonction de (Z) est linéaire tant que le (Z) du soluté est inférieur à celui du ligand de la phase stationnaire. Le problème de la non-linéarité a été généralement relevé pour les homologues les plus légers dans une série d'homologues donnée [76].

Les méthodes mathématiques de détermination du temps mort de la colonne ainsi que les indices de rétention sont basées sur la rétention des séries homologues. Plusieurs séries homologues ont été proposées dans la littérature pour la détermination de ces derniers [76-114]. Baker et coll. [76-82] fut les premiers à proposer le système des indices de rétention en CLHP en utilisant la série des 2-cétones comme série de référence, alors que, Bogusz et coll. [102-114] ont proposé la série des 1-nitroalcanes. Smith et coll. [83-101] ont introduit la série aromatique des alkylphénones pour la détermination des indices d'un grand nombre de solutés pharmaceutiques.

Afin d'étudier le comportement de rétention de dix séries homologues aliphatiques et aromatiques (**Tableau II**), nous avons tracé pour chaque série homologue, le logarithme des facteurs de rétention ($\ln k'$) en fonction du nombre d'atomes de carbone (Z) pour diverses conditions de séparation chromatographiques :

- Différentes compositions de la phase mobile en considérant les deux types de système de phase : acétonitrile-eau et méthanol-eau.
- Différentes températures de la colonne.

Les facteurs de rétention ont été calculés à l'aide de l'**équation II15**. Le temps mort a été déterminé en utilisant la méthode mutiparamétrique [10,11].

Les résultats obtenus pour différentes compositions de la phase mobile pour les deux types de système de phase et ceci pour les séries homologues 2-cétones, alkylphénones et 1-nitroalcanes sont présentés sur les **Figures 6 à 11**.

Les résultats obtenus pour différentes températures de la colonne pour les séries 2-cétones, 3-cétones, alkylphénones, alkylbenzènes, 1-alcools, 2-alcools, esters (formiates et acétates), aldéhydes et 1-nitroalcanes sont présentés sur les **Figures 12 à 21**.

En examinant ces figures, nous pouvons constater qu'une bonne linéarité est observée d'une manière générale pour l'ensemble des séries homologues étudiées à l'exception de la série des alkylbenzènes. Cette série aromatique a montré des tracés non-linéaires sous diverses conditions chromatographiques de séparation.

Les paramètres t_M et B déterminés en se basant sur les diverses séries homologues (**Tableau II**) ainsi que les indices recalculés et ceci par la méthode multiparamétrique, la méthode de Guardino et la méthode de Grobler sont reportés en **annexe A**.

II.4.1. Choix de la série pour la détermination du temps mort :

Sur la base des résultats obtenus, nous pouvons dire que, l'utilisation de l'ensemble des séries homologues étudiées dans ce travail (**Tableau II**) dans la détermination du temps mort de la colonne et des indices de rétention des solutés est possible, à l'exception de la série aromatique des alkylbenzènes. Le rejet de la série des alkylbenzènes est attribuée aux valeurs inacceptables des critères statistiques obtenues par la méthode multiparamétrique ainsi que la non-linéarité du tracé de $(\ln k')$ en fonction de (Z) . D'autre part, pour le choix de la série, d'autres facteurs d'ordre pratique peuvent également intervenir.

En effet, les 2 séries 1-alcools et 2-alcools exigent l'utilisation d'un détecteur à indice de réfraction, de moins en moins utilisé en raison de sa faible instabilité malgré son caractère pratiquement universel. Les séries esters (acétates ou formiates) ainsi que la série des aldéhydes ont présenté une rétention insuffisante dans les conditions expérimentales de ce travail. Par contre, les séries 2-cétones, 3-cétones, les alkylphénones ainsi que les 1-nitroalcanes ont présenté une bonne absorption dans l'ultraviolet et une rétention suffisante pour encadrer les solutés de référence étudiés dans ce travail.

Pour la suite de notre travail et sur la base des résultats obtenus, nous avons sélectionné trois séries homologues (1-nitroalcanes de C_1 à C_6 , 2-cétones de C_4 à C_9 et alkylphénones de C_8 à C_{11}) pour la détermination des paramètres t_M et B et des indices de rétention d'une vingtaine de composés organiques nitrés sur un ensemble de colonnes et sous diverses conditions chromatographiques de séparation (**Tableaux I et III**).

En effet, en utilisant simultanément ces trois séries homologues, nous couvrons un large domaine de rétention pour le calcul des indices de rétention. De même, l'utilisation de deux séries aliphatiques avec une fonction différente (fonction cétone et fonction nitro) et une série

aromatique, nous permettra de comparer les résultats obtenus en utilisant chacune des séries séparément.

II.5. Conclusion :

La méthode multiparamétrique que nous avons développée pour la première fois dans ce travail en CLHP, a conduit dans un intervalle de temps court à l'obtention des trois paramètres de la régression (t_M , B et c) de bonne qualité ainsi qu'à l'acceptation ou au rejet du modèle dans l'estimation de ces derniers.

Le choix d'une série d'homologues pour l'estimation des données de rétention est possible en utilisant les critères statistiques d'appréciation de la qualité de l'ajustement (écarts types sur les paramètres, erreurs résiduelles sur les temps de rétention et erreurs résiduelles sur les indices de rétention).

L'étude du comportement de rétention de dix séries homologues aliphatiques et aromatiques avec divers groupements fonctionnels, nous a permis de sélectionner pour la suite de notre travail trois séries homologues (2-cétones, 1-nitroalcanes et alkylphénones) pour la détermination des paramètres t_M et B et des indices de rétention d'une vingtaine de composés organiques nitrés. En effet, en utilisant simultanément ces trois séries homologues, nous couvrons un large domaine de rétention pour le calcul des indices de rétention.

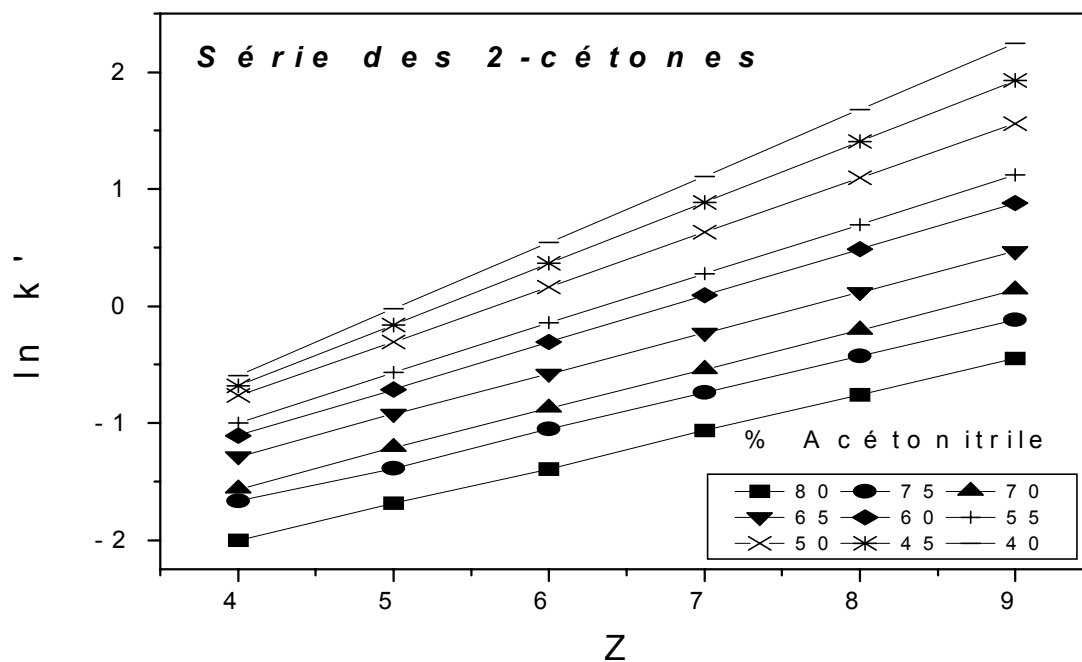


Figure 6: Effet de la composition de la phase mobile (système: acétonitrile-eau) sur la rétention de la série des 2-cétones sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

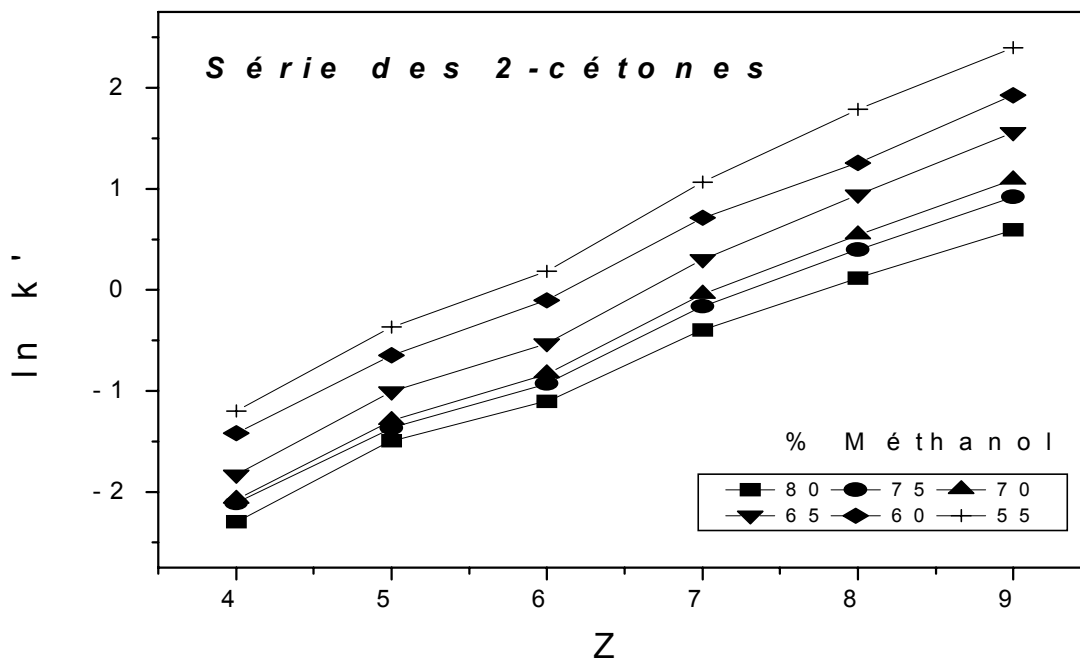


Figure 7: Effet de la composition de la phase mobile (système: méthanol-eau) sur la rétention de la série des 2-cétones sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

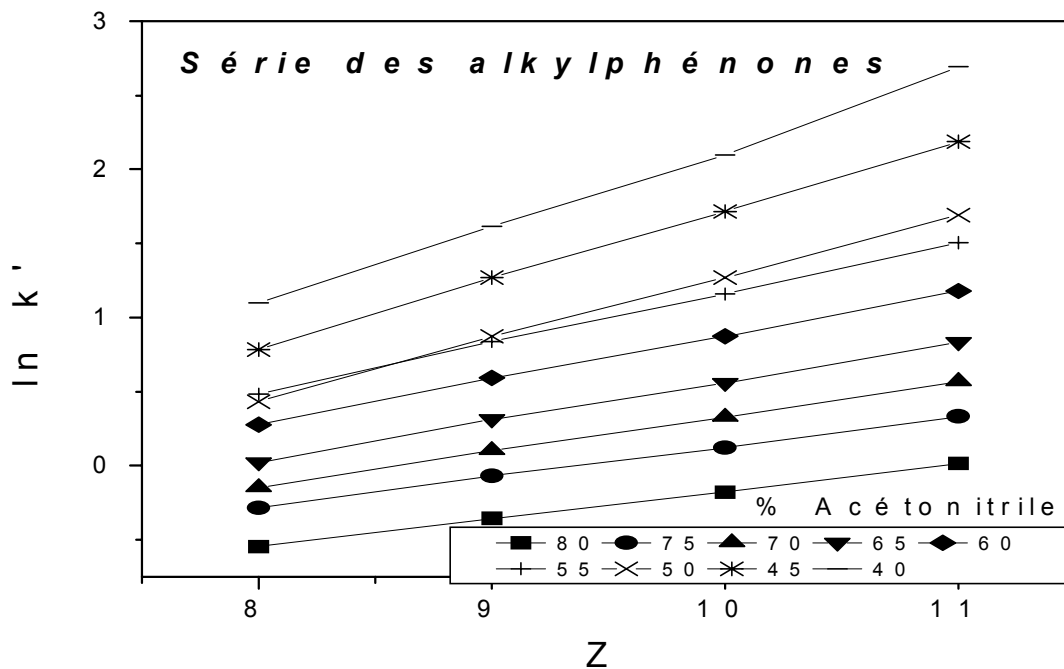


Figure 8: Effet de la composition de la phase mobile (système: acétonitrile-eau) sur la rétention de la série des alkylphénones sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

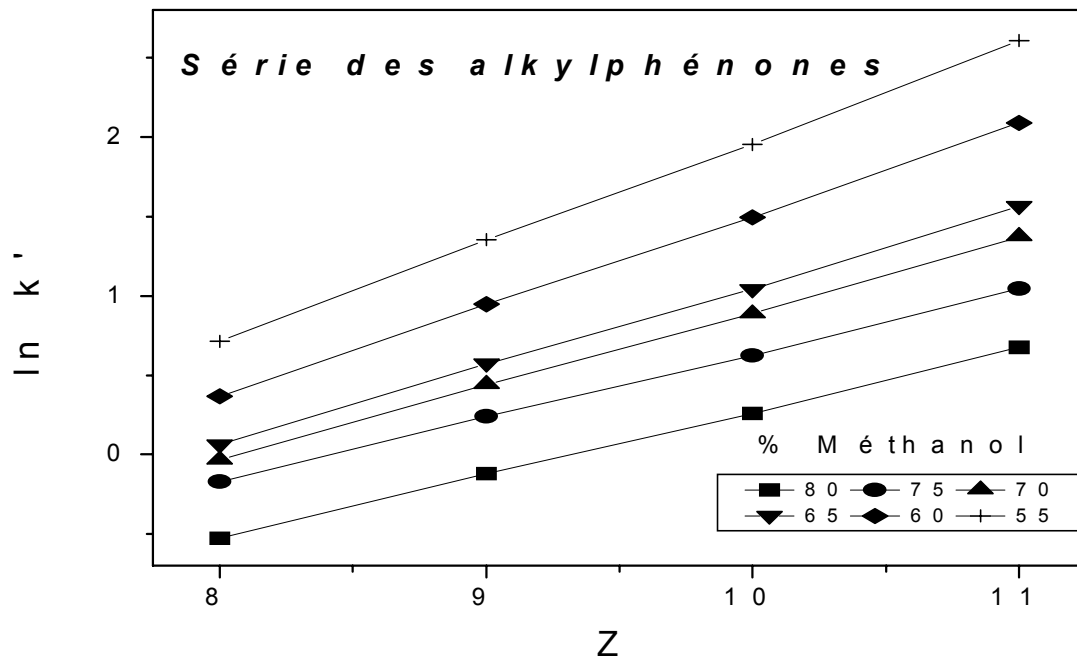


Figure 9: Effet de la composition de la phase mobile (système: méthanol-eau) sur la rétention de la série des alkylphénones sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

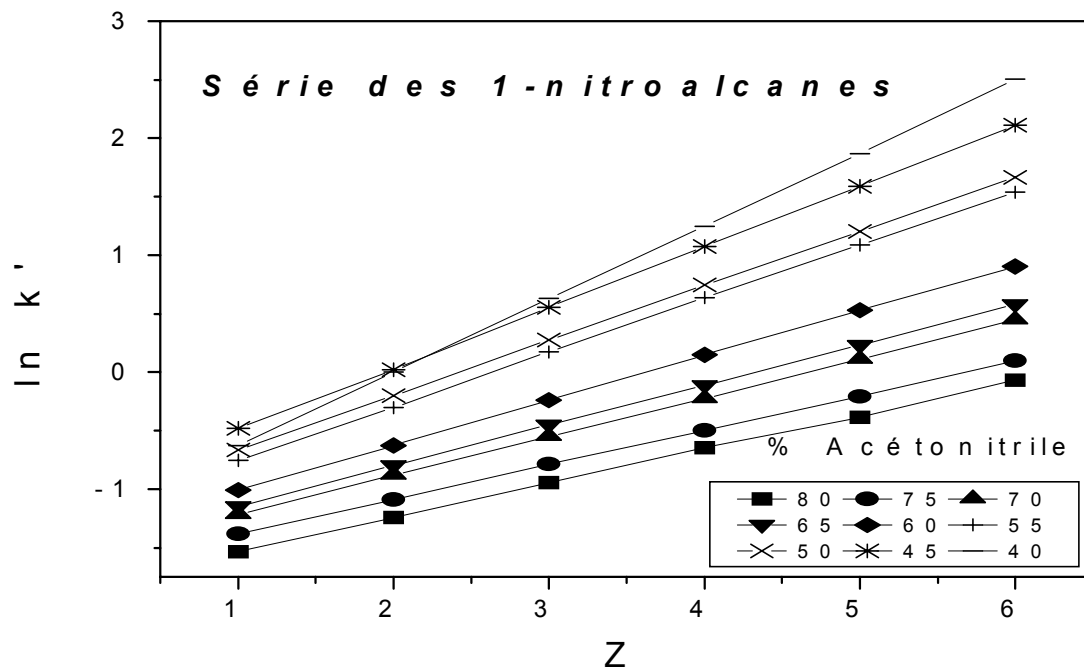


Figure 10: Effet de la composition de la phase mobile (système: acétonitrile-eau) sur la rétention de la série des 1-nitroalcanes sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

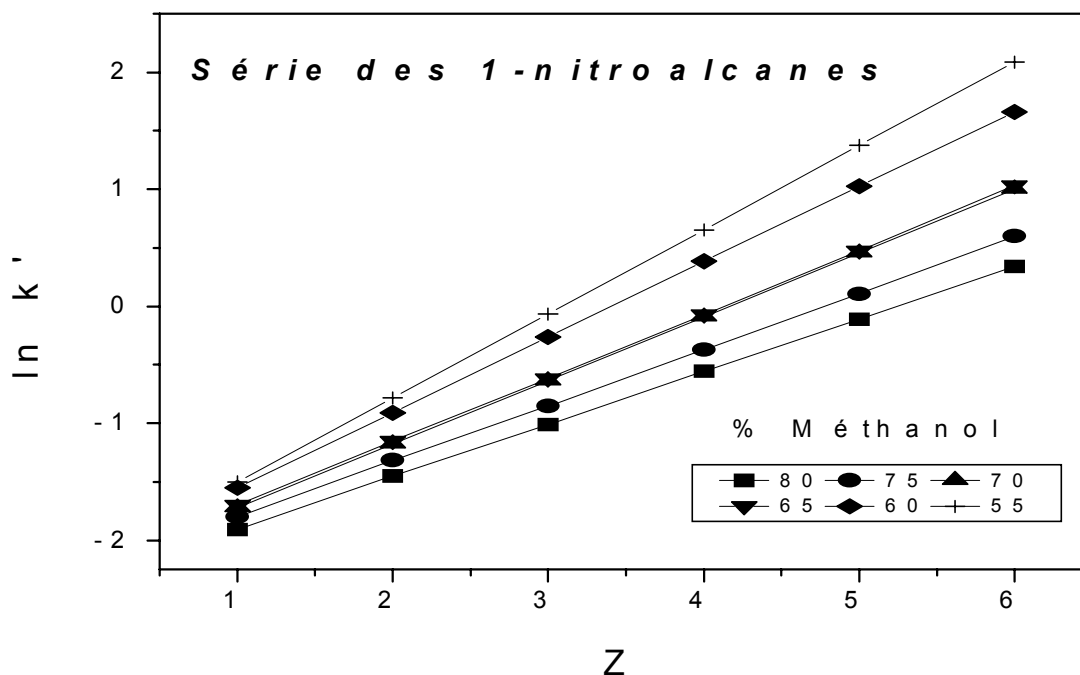


Figure 11: Effet de la composition de la phase mobile (système: méthanol-eau) sur la rétention de la série des 1-nitroalcanes sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

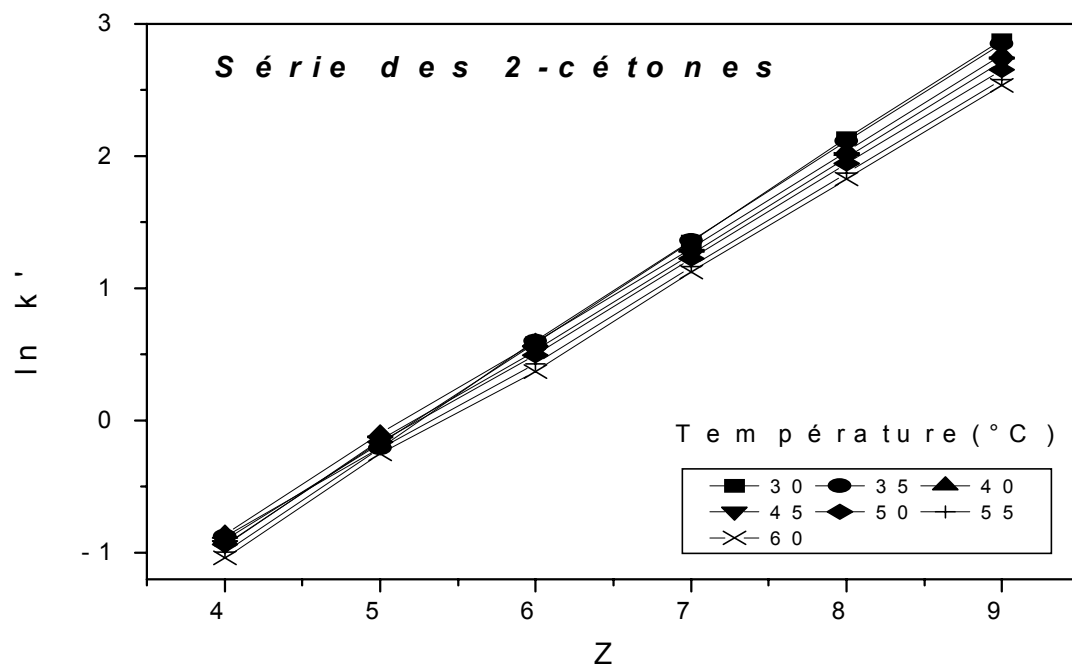


Figure 12: Effet de la température de la colonne sur la rétention de la série des 2-cétones sur la colonne Sphérisorb-ODS2 C₁₈.

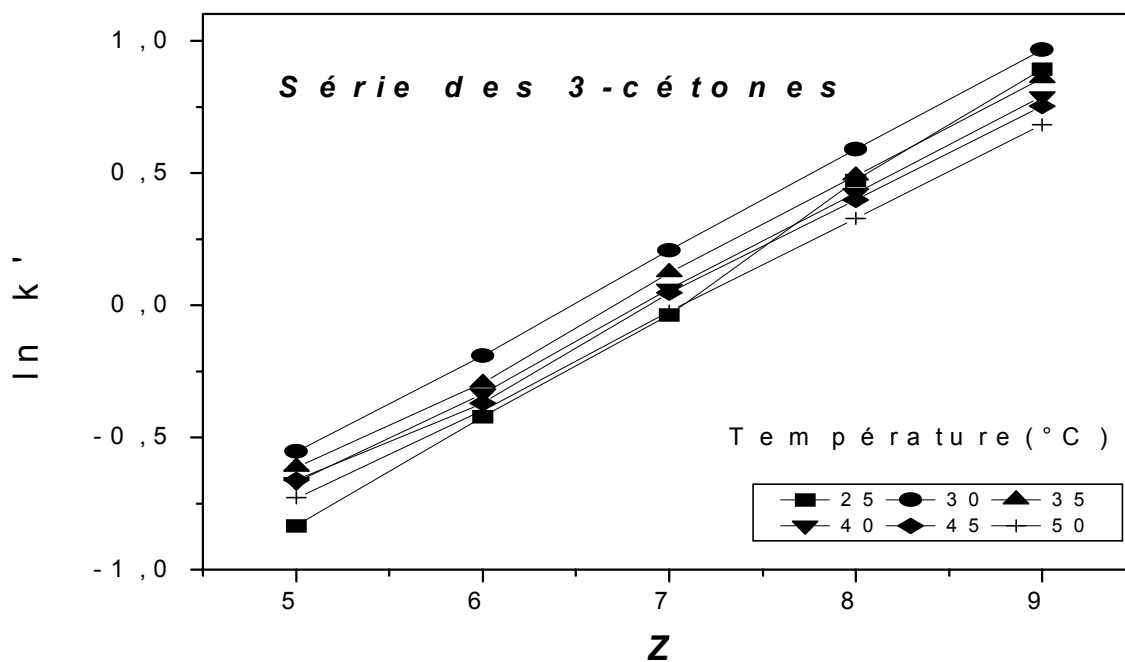


Figure 13: Effet de la température de la colonne sur la rétention de la série des 3-cétones sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

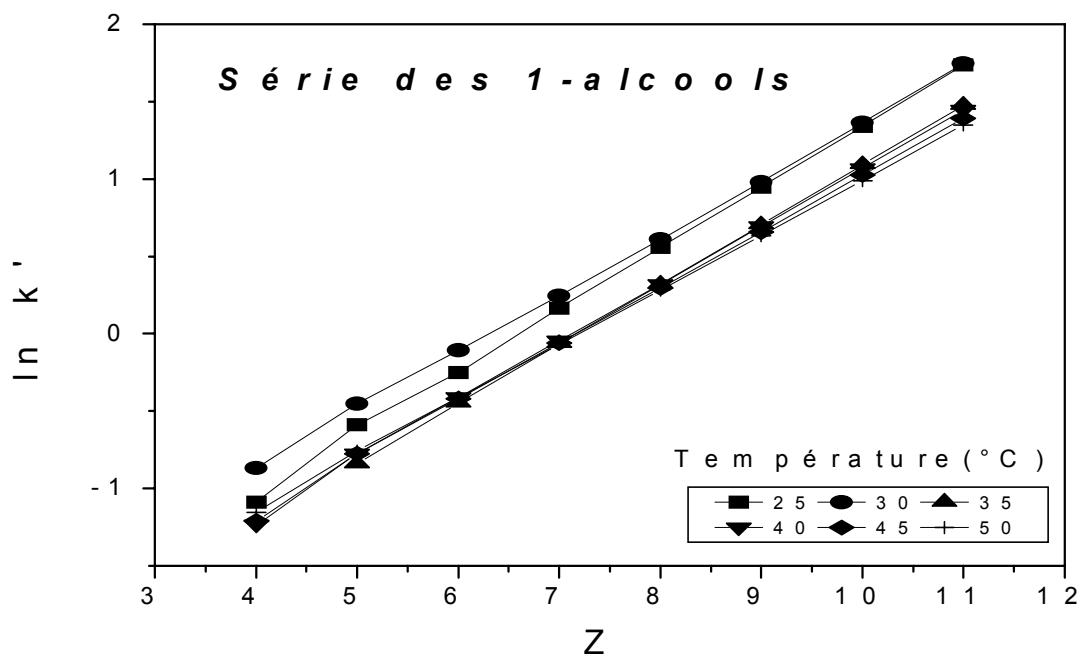


Figure 14: Effet de la température de la colonne sur la rétention de la série des 1-alcools sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

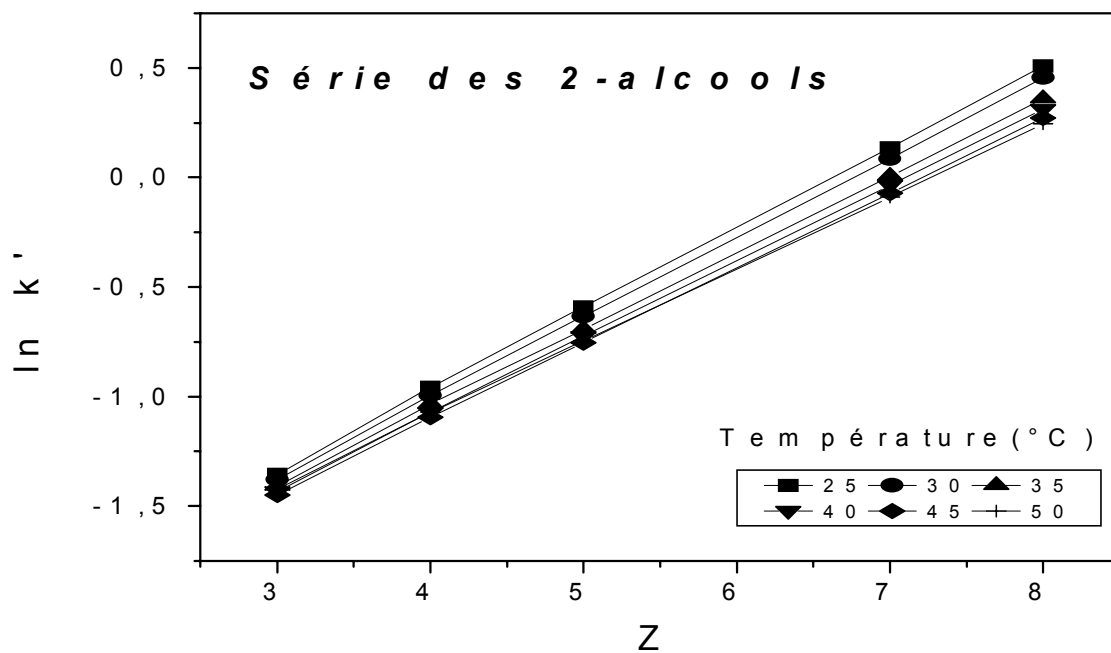


Figure 15: Effet de la température de la colonne sur la rétention de la série des 2-alcools sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

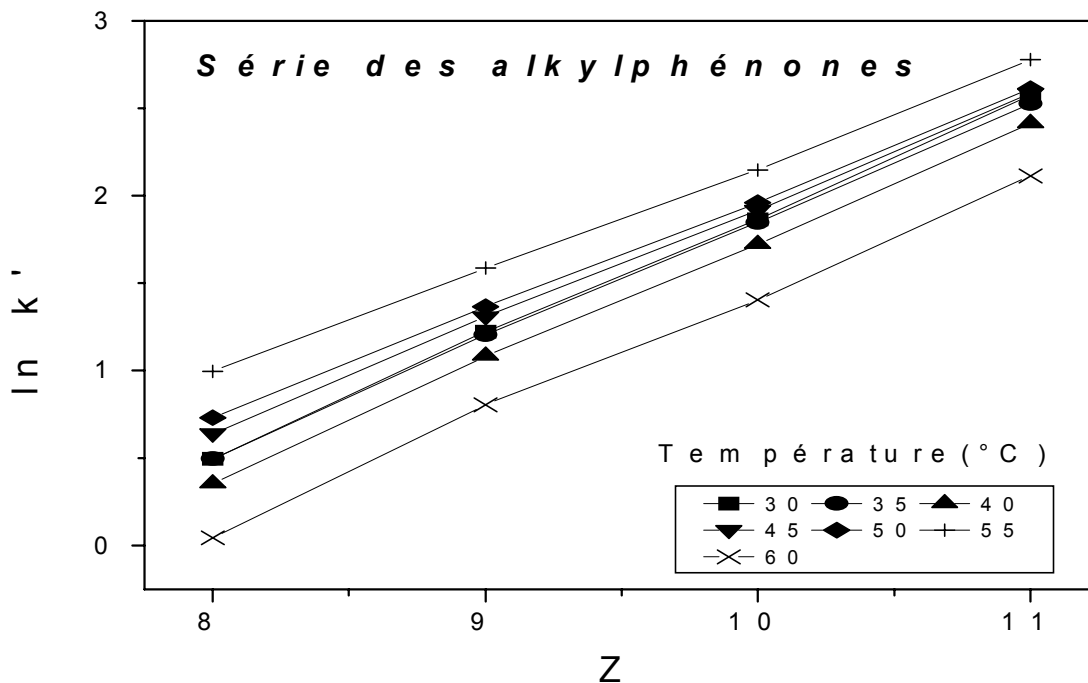


Figure 16: Effet de la température de la colonne sur la rétention de la série des alkylphénones sur la colonne Sphérisorb-ODS2 C₁₈.

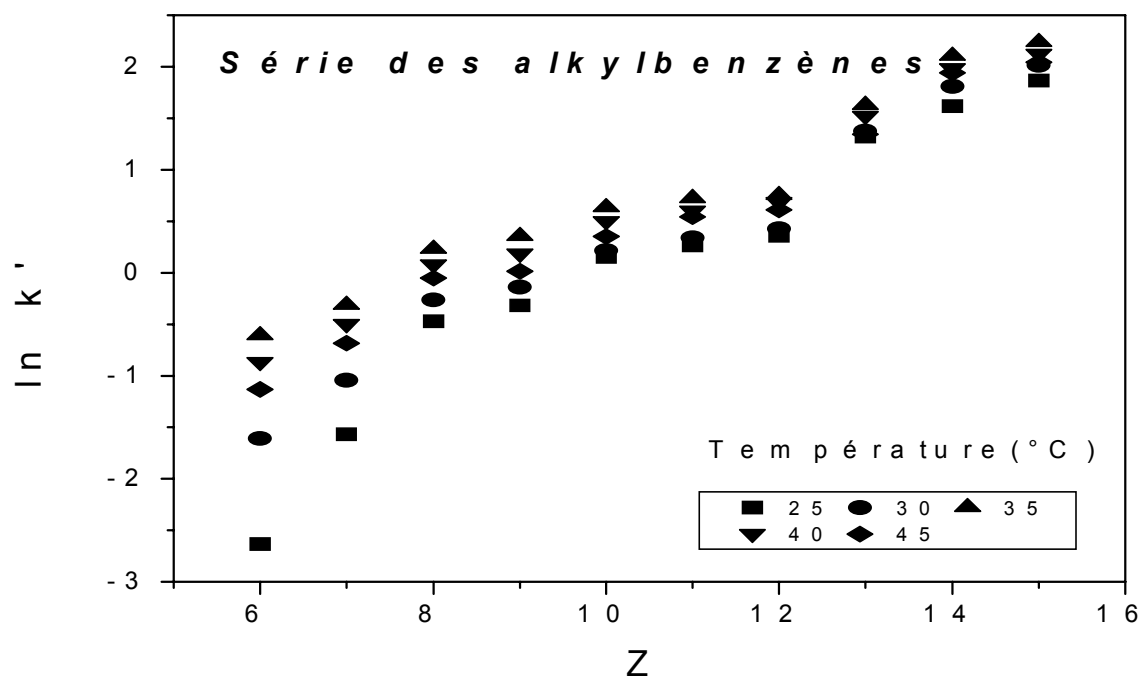


Figure 17 : Effet de la température de la colonne sur la rétention de la série des alkylbenzènes sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

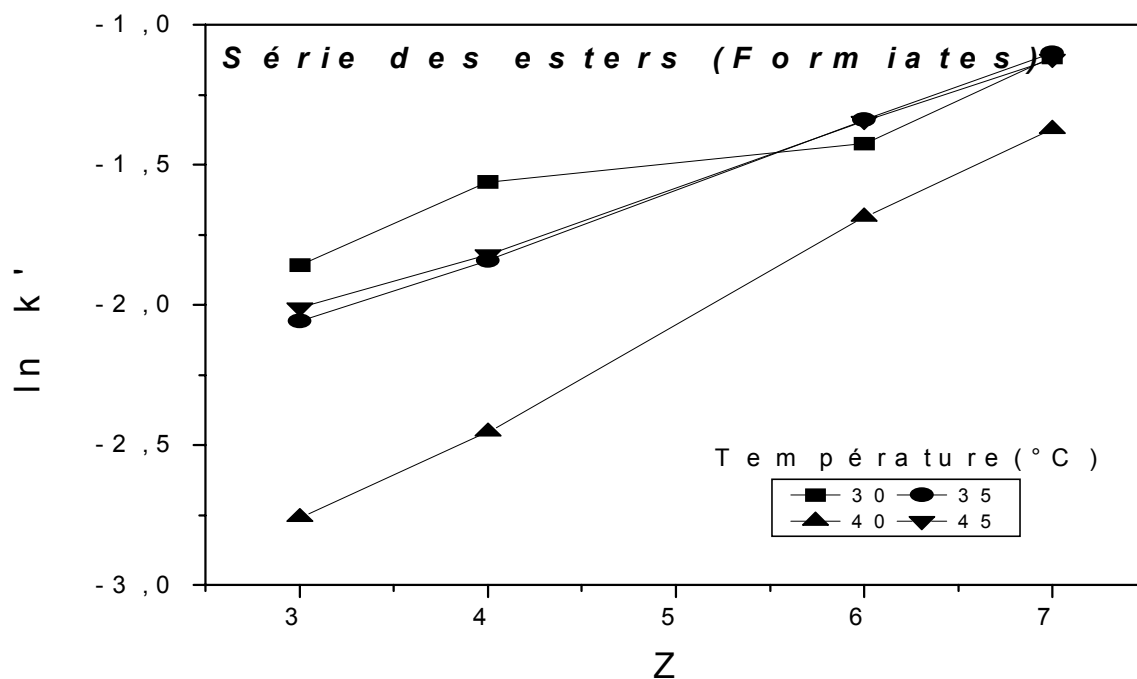


Figure 18 : Effet de la température de la colonne sur la rétention de la série des esters (formiates) sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

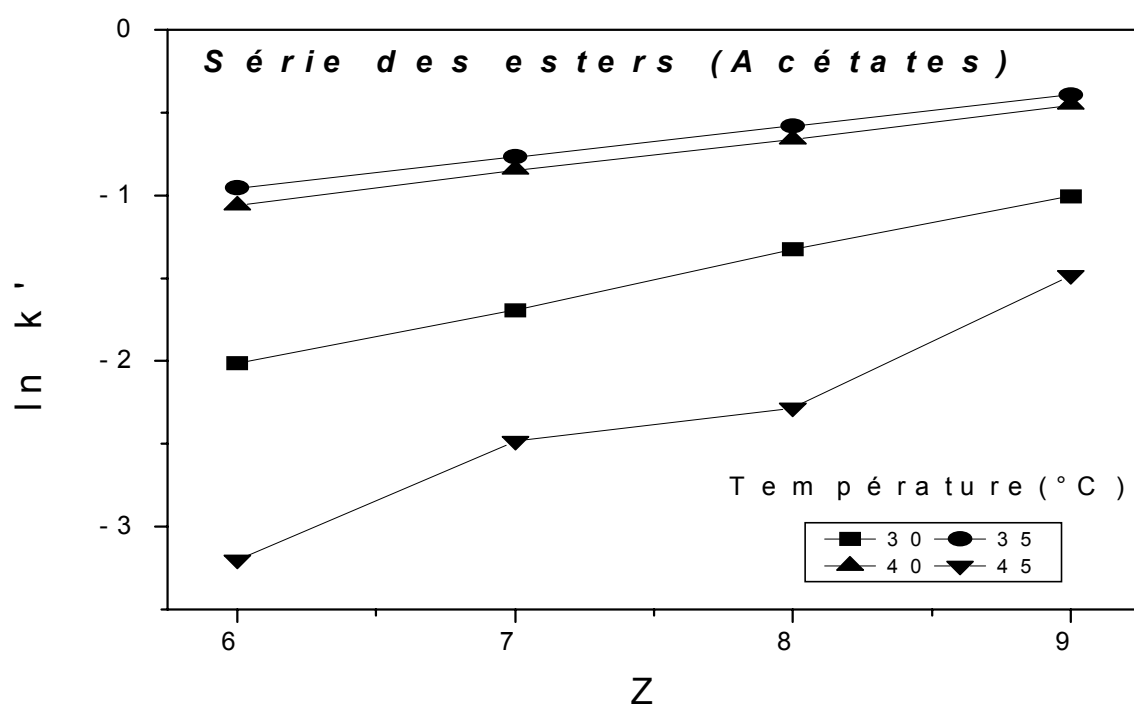


Figure 19: Effet de la température de la colonne sur la rétention de la série des esters (acétates) sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

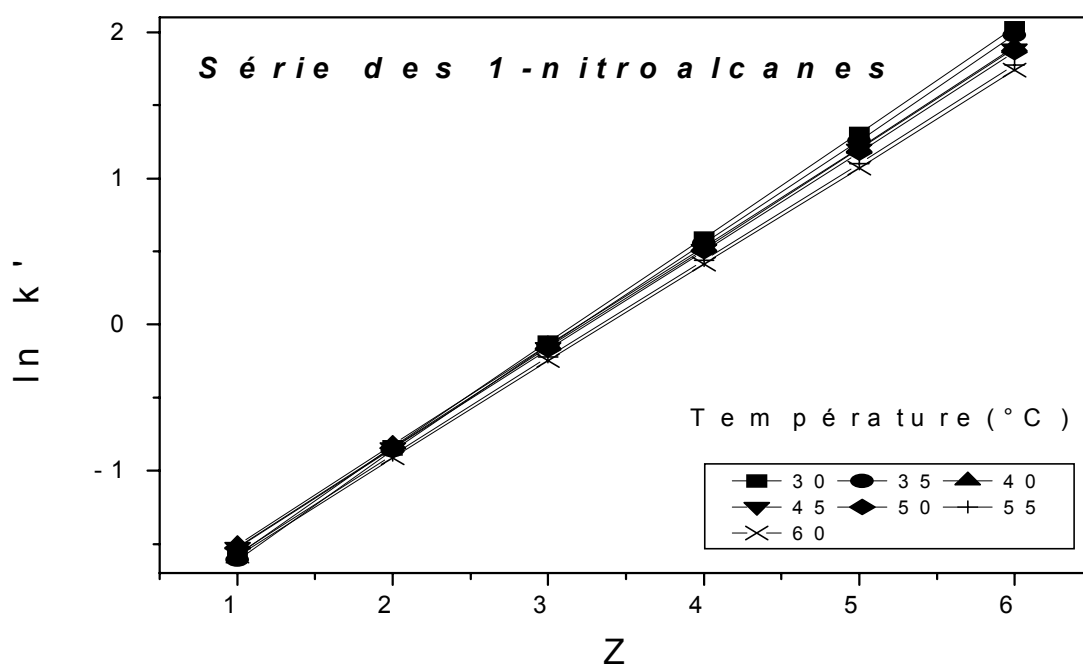


Figure 20: Effet de la température de la colonne sur la rétention de la série des 1-nitroalcanes sur la colonne Sphérisorb-ODS2 C₁₈.

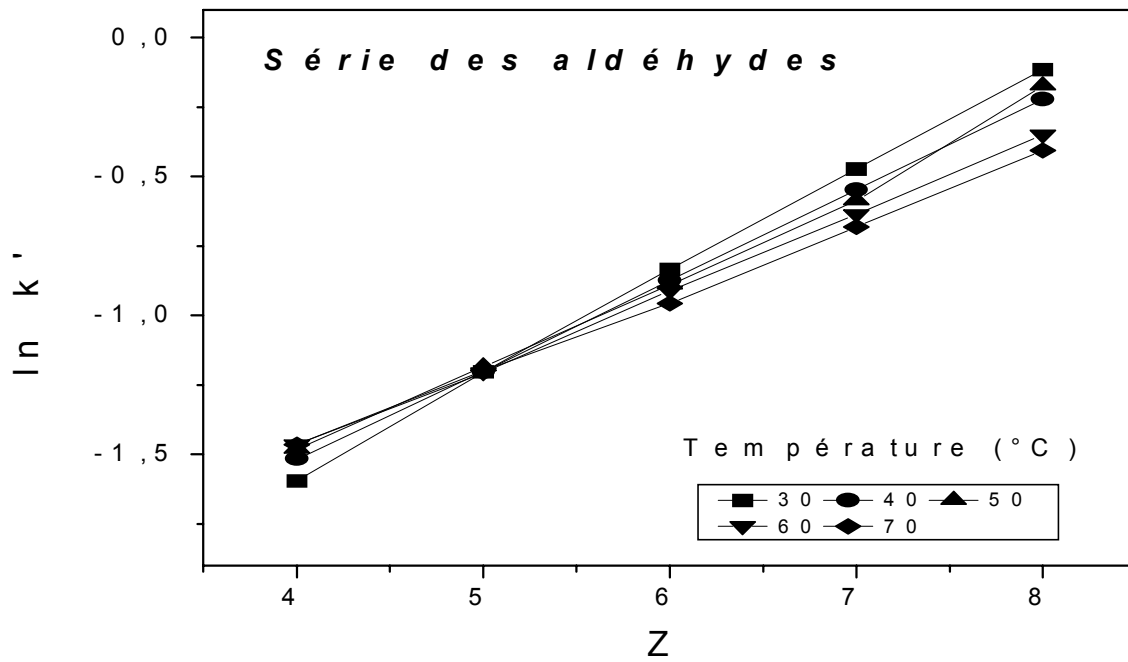


Figure 21: Effet de la température de la colonne sur la rétention de la série des aldéhydes sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

III.1. Introduction :

L'établissement des grandeurs de rétention, telles que les facteurs de rétention, les paramètres de la rétention relative ou les indices de rétention reposent sur la connaissance du temps mort de la colonne t_M [1]. En CLHP, plusieurs controverses ont été développées dans la littérature quant au choix de la meilleure technique à utiliser pour la détermination du temps mort (t_M):

- Soit par des méthodes directes (expérimentales) en injectant un soluté supposé non retenu et non exclu par la phase stationnaire [6, 12-22].
- Soit en le déterminant par des méthodes indirectes (mathématiques) à partir d'une série d'homologues sur l'équation **III1** présumée linéaire [40-55]:

$$\ln (t_{Ri} - t_M) = b \cdot Z_i + c \quad \text{(III1)}$$

En CPG, le rôle important du temps mort t_M et de la pente b de l'équation **III1** dans la détermination des indices de rétention à partir de plusieurs méthodes mathématiques itératives et statistiques à été mis en évidence par plusieurs auteurs [10,11,44,45]. Certaines de ces méthodes ont été transposées en CLHP [46,48,49].

Dans ce chapitre, les paramètres de la régression t_M et B ont été déterminés par une méthode multiparamétrique que nous avons développée en CLHP [10,11] à partir de l'équation **III2** (équivalente à l'équation **III1**) :

$$(t_{Ri} - t_M) = A \cdot \exp (B \cdot Z_i) \quad \text{avec} \quad A = e^c \quad \text{et} \quad B = b \cdot \ln 10 \quad \text{(III2)}$$

Afin de vérifier la validité de notre méthode, ces deux paramètres sont comparés à ceux obtenus par la méthode itérative de Guardino (GU) [45] et la méthode statistique de Grobler (GR) [44] et ceci en utilisant la rétention de trois séries homologues :

- La série aliphatique des 2-cétones (C₄-C₉).
- La série aromatique des alkylphénones (C₈-C₁₁).
- La série aliphatique des 1-nitroalcanes (C₁-C₆).

En plus de la détermination de t_M par les méthodes mathématiques basées sur la rétention des séries homologues, nous avons également évalué ce dernier expérimentalement en injectant deux solutés supposés non retenus par la phase stationnaire [13]:

- Le nitrate de sodium (NaNO₃).
- La thiocarbamide ou thiourée (NH₂CSNH₂).

Les paramètres de la régression t_M et B ont été déterminés sur dix colonnes chromatographiques :

- Neuf colonnes octadécyl-silice C₁₈ (nominalement équivalentes mais remplies avec différents matériaux C₁₈).
- Une colonne octyl-silice C₈.

Notre étude s'est poursuivie par l'examen de l'influence de quelques variables chromatographiques de séparation susceptibles d'affecter les valeurs des paramètres t_M et B , telles que :

- La nature de la série homologue.
- La composition et la nature de la phase mobile.
- La température de la colonne.
- La nature du matériau de remplissage de la colonne.

III.2. Résultats et discussion :

III.2.1. Détermination des paramètres t_M et B par 3 méthodes mathématiques :

Afin de comparer entre elles les méthodes mathématiques de détermination des paramètres t_M et B , nous les avons déterminés à partir de trois méthodes mathématiques (multiparamétrique, Guardino et Grobler). Afin d'apprécier les données de rétention déterminées par les trois méthodes, les résultats sont donnés avec leurs critères statistiques.

Nous avons considéré diverses conditions chromatographiques de séparation, nous présentons les résultats obtenus pour deux exemples :

- Le premier exemple porte sur les résultats obtenus pour deux compositions de phase mobile et ceci pour deux types de systèmes de phase (méthanol-eau et acétonitrile-eau) sur les colonnes μ Bondapak C₁₈ et Nucléosil C₈. Les résultats sont regroupés dans le **Tableau V**.
- Pour le deuxième exemple, nous donnons les résultats obtenus pour différentes températures de la colonne sur les colonnes Spherisorb-ODS2 C₁₈ et Nucléosil C₈. Les résultats obtenus sont reportés dans le **Tableau VI**.

L'examen des tableaux suscite les remarques suivantes :

- Un excellent accord est obtenu entre les diverses méthodes mathématiques de calcul (MP, GR et GU), notamment la méthode de Guardino et la méthode multiparamétrique.
- Les paramètres du modèle sont significatifs puisque les écarts types donnés par la méthode multiparamétrique ont des valeurs faibles. Comme l'illustre l'exemple suivant tiré des valeurs obtenues sur la μ Bondapak C₁₈ pour le système de phase acétonitrile-eau 80:20 (v/v) :

• **Exemple tiré des valeurs obtenues à partir de la série des 2-cétones :**

$$t_M = 2.964 (0.018) ; B = 0.553 (0.006)$$

$$2.964 - (0.018 \times 3) < 2.964 < 2.964 + (0.018 \times 3)$$

$$0.553 - (0.006 \times 3) < 0.553 < 0.553 + (0.006 \times 3)$$

• **Exemple tiré des valeurs obtenues à partir de la série des alkylphénones :**

$$t_M = 2.589 (0.089) ; B = 0.397 (0.013)$$

$$2.589 - (0.089 \times 3) < 2.589 < 2.589 + (0.089 \times 3)$$

$$0.397 - (0.013 \times 3) < 0.397 < 0.397 + (0.013 \times 3)$$

• **Exemple tiré à partir des valeurs obtenues à partir de la série des 1-nitroalcanes :**

$$t_M = 2.657 (0.006) ; B = 0.450 (0.003)$$

$$2.657 - (0.006 \times 3) < 2.657 < 2.657 + (0.006 \times 3)$$

$$0.450 - (0.003 \times 3) < 0.450 < 0.450 + (0.003 \times 3)$$

- Les écarts types sur les deux paramètres t_M et B obtenus à partir des deux séries aliphatiques 2-cétones et 1-nitroalcanes sont les plus faibles, tandis que les valeurs les plus élevées sont celles relevées à partir de la série aromatique des alkylphénones.

Notons que les écarts types sur ces paramètres ont été calculés seulement par la méthode multiparamétrique, alors que l'écart type n'a jamais été étudié par les deux autres méthodes comparatives.

- Globalement, les erreurs résiduelles sur les temps de rétention $S(t_{Ri})$ sont satisfaisantes, à l'exception de quelques fluctuations.

- La méthode multiparamétrique et celle de Guardino conduisent généralement à des erreurs résiduelles faibles qui se rapprochent sensiblement. Par contre, les erreurs résiduelles relevées par la méthode de Grobler présentent des valeurs beaucoup plus élevées.

- Les coefficients de corrélation retenus par la méthode de Guardino montrent une bonne corrélation des valeurs expérimentales. Dans tous les cas, nous avons trouvé $R^2 > 0.99998$.

- Pour une même composition de la phase mobile et une même colonne, les valeurs de t_M et B relevées pour le système acétonitrile-eau sont plus élevées que celles obtenues pour le système méthanol-eau.

En se basant sur la rétention des trois séries homologues (2-cétones, alkylphénones et 1-nitroalcanes), la comparaison des valeurs de t_M et B obtenues, montre que ces derniers dépendent de façon considérable de la nature de la série de référence choisie.

Tableau V: Comparaison des valeurs de t_M et B déterminées par trois méthodes mathématiques pour deux types de systèmes de phase mobile.

Phase mobile	solvant organique-eau (80:20 v/v)									solvant organique-eau (65:35 v/v)														
	µBondapak C ₁₈			Nucléosil C ₈			µBondapak C ₁₈			Nucléosil C ₈														
Colonne	Acétonitrile			Méthanol			Acétonitrile			Méthanol			Acétonitrile			Méthanol								
Système	MP ^a	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR			
Méthode	MP ^a	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR			
2-Cétones																								
t_M	2.964 0.018	2.788	2.778	2.791 0.117	2.794	2.787	2.333 0.006	2.292	2.359	2.246 0.007	2.157	2.144	3.068 0.013	2.990	2.991	2.739 0.030	2.729	2.721	2.471 0.018	2.399	2.650	2.290 0.005	2.239	2.377
B	0.553 0.006	0.491	0.487	0.310 0.039	0.311	0.307	0.623 0.002	0.599	0.633	0.379 0.002	0.351	0.346	0.701 0.004	0.649	0.648	0.349 0.005	0.347	0.345	0.802 0.007	0.782	0.868	0.511 0.002	0.475	0.526
S(t_{Ri}) ^b	0.191	0.106	0.356	0.005	0.005	0.078	0.458	0.262	0.638	0.039	0.046	0.245	0.817	0.223	0.531	0.004	0.005	0.096	1.133	1.068	1.489	0.328	0.201	0.576
Alkylphénones																								
t_M	2.589 0.089	2.598	2.589	2.190 0.515	2.150	2.151	1.777 0.030	1.827	1.818	1.297 0.043	1.184	1.176	2.534 0.228	2.616	2.595	2.015 0.434	1.670	1.662	1.961 0.384	2.010	1.979	1.100 0.695	1.125	1.116
B	0.397 0.013	0.400	0.398	0.186 0.057	0.182	0.182	0.418 0.004	0.425	0.423	0.252 0.004	0.241	0.240	0.496 0.023	0.505	0.502	0.268 0.036	0.241	0.240	0.595 0.038	0.600	0.597	0.335 0.050	0.338	0.337
S(t_{Ri})	0.055	0.051	0.302	0.012	0.012	0.148	0.050	0.044	0.280	0.013	0.012	0.147	0.163	0.137	0.492	0.046	0.047	0.289	0.162	0.141	0.503	0.034	0.031	0.237
1-Nitroalcanes																								
t_M	2.657 0.006	2.656	2.652	2.525 0.005	2.521	2.537	2.074 0.013	2.084	2.110	1.930 0.040	1.931	1.951	2.655 0.019	2.670	2.661	2.493 0.045	2.482	2.481	2.156 0.037	2.157	2.134	1.837 0.049	1.843	1.860
B	0.450 0.003	0.448	0.446	0.293 0.002	0.289	0.293	0.538 0.007	0.546	0.560	0.297 0.010	0.298	0.304	0.544 0.009	0.551	0.547	0.344 0.009	0.342	0.340	0.769 0.018	0.768	0.754	0.355 0.010	0.356	0.359
S(t_{Ri})	0.009	0.009	0.116	0.028	0.024	0.154	0.013	0.024	0.229	0.008	0.007	0.104	0.052	0.025	0.180	0.011	0.012	0.121	0.053	0.068	0.356	0.021	0.020	0.140

- (a) (MP) : Méthode multiparamétrique [10,11] où les paramètres sont donnés avec leurs écarts types ; (GU) : Méthode de Guardino [45] ; (GR): Méthode de Grobler [44].
 (b) S(t_{Ri}): Erreur résiduelle sur les temps de rétention.

Tableau VI: Comparaison des valeurs de t_M et B déterminées par trois méthodes mathématiques à différentes températures de la colonne (composition de la phase mobile 51 :59 (v/v) en méthanol-tampon phosphate ; pH 3.80)

T (°C)	Colonne Spherisorb-ODS2 C ₁₈												Colonne Nucléosil C ₈											
	30			40			50			60			30			40			50			60		
Méthode	MP ^a	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR
2-Cétones																								
t_M	1.943	1.990	2.044	1.947	1.935	1.853	1.972	1.936	1.865	1.995	1.937	1.872	2.303	2.419	2.489	2.201	2.307	2.371	2.184	2.310	2.365	2.205	2.300	2.392
	0.024			0.010			0.005			0.003			0.013			0.018			0.004			0.002		
B	0.761	0.771	0.783	0.717	0.719	0.701	0.714	0.706	0.690	0.708	0.692	0.673	0.744	0.766	0.779	0.729	0.748	0.761	0.698	0.729	0.738	0.662	0.722	0.742
	0.005			0.001			0.001			0.001			0.002			0.002			0.001			0.001		
S(t_{Ri}) ^b	0.285	0.233	0.609	0.171	0.170	0.586	0.056	0.111	0.528	0.098	0.126	0.474	0.569	0.674	0.996	0.548	0.601	0.941	0.404	0.554	0.894	0.414	0.655	0.997
Alkylphénones																								
t_M	2.301	2.011	1.899	2.256	1.866	1.783	1.679	1.777	1.714	2.405	1.954	1.819	2.937	2.455	2.400	2.339	2.259	2.212	2.176	2.141	2.104	2.100	2.047	2.015
	0.136			0.017			0.224			0.022			0.007			0.138			0.168			0.131		
B	0.685	0.665	0.655	0.668	0.649	0.642	0.624	0.632	0.625	0.684	0.633	0.620	0.704	0.676	0.671	0.673	0.666	0.660	0.646	0.643	0.639	0.626	0.621	0.616
	0.008			0.001			0.203			0.002			0.001			0.010			0.014			0.010		
S(t_{Ri})	0.352	0.463	0.920	0.333	0.355	0.803	0.341	0.295	0.719	0.415	0.544	0.995	0.167	0.221	0.638	0.151	0.188	0.588	0.137	0.154	0.529	0.105	0.123	0.474
1-Nitroalcanes																								
t_M	1.836	1.822	1.808	1.828	1.827	1.817	1.770	1.769	1.762	1.765	1.756	1.750	2.219	2.239	2.262	2.134	2.150	2.171	2.071	2.106	2.127	2.068	2.089	2.108
	0.106			0.007			0.004			0.003			0.014			0.001			0.002			0.002		
B	0.719	0.712	0.705	0.679	0.679	0.674	0.676	0.676	0.672	0.663	0.658	0.655	0.730	0.737	0.746	0.713	0.719	0.726	0.688	0.699	0.708	0.675	0.680	0.688
	0.003			0.003			0.001			0.001			0.003			0.001			0.001			0.001		
S(t_{Ri})	0.023	0.048	0.270	0.040	0.046	0.242	0.033	0.033	0.201	0.014	0.023	0.168	0.013	0.056	0.338	0.013	0.049	0.311	0.013	0.055	0.314	0.023	0.040	0.274

- (b) (MP) : Méthode multiparamétrique [10,11] où les paramètres sont donnés avec leurs écarts types ; (GU) : Méthode de Guardino [45] ; (GR) : Méthode de Grobler [44].
 (b) S(t_{Ri}) : Erreur résiduelle sur les temps de rétention.

III.2.2. Influence du nombre d'homologues d'une même série sur la variation des paramètres t_M et B :

Dans le but d'étudier l'influence du nombre d'homologues d'une même série sur la variation des paramètres t_M et B , nous avons choisi la série aliphatique des 2-cétones avec 10 homologues de C_3 à C_{12} . Nous présenterons seulement les résultats obtenus par la méthode multiparamétrique [10,11] où le maximum d'informations statistiques sont disponibles.

- **Sélection des groupes d'homologues :**

La régression initiale prend en considération l'ensemble des dix homologues de la série de référence des 2-cétones (C_3 - C_{12}), ensuite des homologues soit les plus « légers » ou les plus « lourds » sont retirés à chaque fois.

Sur l'ensemble des groupes d'homologues étudiés, nous présenterons les résultats obtenus pour les homologues consécutifs (groupes de 1 à 9) et non consécutifs (groupes 10 et 11) :

- **Groupe d'homologues :**

- a) Homologues consécutifs :*

(1) : (C_3 - C_4 - C_5 - C_6 - C_7 - C_8 - C_9 - C_{10} - C_{11} - C_{12}).

(2) : (C_3 - C_4 - C_5 - C_6 - C_7 - C_8 - C_9 - C_{10}).

(3) : (C_3 - C_4 - C_5 - C_6 - C_7 - C_8).

(4) : (C_3 - C_4 - C_5 - C_6).

(5) : (C_5 - C_6 - C_7 - C_8 - C_9 - C_{10} - C_{11} - C_{12}).

(6) : (C_7 - C_8 - C_9 - C_{10} - C_{11} - C_{12}).

(7) : (C_9 - C_{10} - C_{11} - C_{12}).

(8) : (C_4 - C_5 - C_6 - C_7 - C_8 - C_9 - C_{10} - C_{11}).

(9) : (C_5 - C_6 - C_7 - C_8 - C_9 - C_{10}).

- b) Homologues non consécutifs :*

(10) : (C_3 - C_5 - C_7 - C_9 - C_{11}).

(11) : (C_4 - C_6 - C_8 - C_{10} - C_{12}).

Les résultats obtenus sur les colonnes Spherisorb-ODS2 C_{18} et Nucléosil C_8 sont rassemblés dans le **Tableau VII**.

- Pour l'ensemble des groupes d'homologues étudiés, les écarts types sur les valeurs de t_M et B ainsi que les erreurs résiduelles sur les temps de rétention $s(t_{Ri})$ sont généralement faibles. Nous pouvons avancer que, globalement tous les groupes d'homologues étudiés ont conduit à des résultats satisfaisants.

- Afin d’apprécier la qualité de la linéarité du tracé du logarithme des temps de rétention corrigés ($\ln t'_R$) en fonction du nombre d’atomes de carbone (Z) pour la série 2-cétones (C_3 - C_{12}), nous présentons sur la **Figure 22** pour les colonnes Spherisorb-ODS2 C_{18} et Nucléosil C_8 ces graphes. Une bonne linéarité pour l’ensemble des dix homologues a été relevée où le coefficient de corrélation $R^2 > 0.9998$ pour les 2 colonnes.

- Le fait d’éliminer un homologue « léger » ou « lourd » influe légèrement sur les valeurs de t_M (variation au niveau de la première décimale), à l’inverse des valeurs de B qui restent sensiblement constantes (variation au niveau de la seconde décimale). Dans le cas de la série des 2-cétones sur les colonnes Spherisorb-ODS2 C_{18} et Nucléosil C_8 , le choix du nombre d’homologues pour la détermination des paramètres t_M et B n’est pas significatif.

Toutefois, il est important de signaler que, pour l’obtention des valeurs de t_M et B de bonne qualité en utilisant la multiparamétrique, un groupe de quatre homologues au minimum est nécessaire. L’utilisation de trois homologues a conduit à des résultats en dehors du domaine de confiance. D’autre part, le fait d’utiliser un groupe d’homologues non consécutifs dans la régression, n’influe pas sur la qualité des valeurs de t_M et B ainsi que sur les critères statistiques d’appréciation. La méthode multiparamétrique offre l’avantage important de donner des paramètres de la régression de bonne qualité en utilisant des groupes d’homologues consécutifs ou non consécutifs (**Tableau VII**).

Tableau VII: Influence du nombre d’homologues de la série des 2-cétones sur l’estimation des valeurs de t_M et B déterminés par la multiparamétrique (MP) (composition de la phase mobile 75 :25 (v/v) en méthanol-eau).

	Groupe d’homologues utilisé dans le calcul										
	(1) Z: 3-12	(2) Z: 3-10	(3) Z: 3-8	(4) Z: 3-6	(5) Z: 5-12	(6) Z: 7-12	(7) Z: 9-12	(8) Z: 4-11	(9) Z: 5-10	(10) Z: 3,5,7,9,11	(11) Z: 4,6,8,10,12
Colonne Spherisorb-ODS2 C_{18}											
t_M (MP)	1.860 (0.003)	1.871 (0.004)	1.895 (0.006)	1.812 (0.030)	1.777 (0.016)	1.778 (0.053)	1.985 (0.245)	1.854 (0.010)	1.784 (0.025)	1.855 (0.005)	1.854 (0.010)
B	0.457 (0.001)	0.466 (0.003)	0.491 (0.006)	0.400 (0.024)	0.444 (0.003)	0.441 (0.005)	0.456 (0.017)	0.459 (0.003)	0.446 (0.006)	0.455 (0.003)	0.457 (0.002)
$S(t_{Ri})$	0.106	0.062	0.018	0.001	0.050	0.051	0.106	0.057	0.050	0.044	0.121
Colonne Nucléosil C_8											
t_M (MP)	2.137 (0.009)	2.193 (0.011)	2.267 (0.013)	2.166 (0.050)	2.010 (0.017)	1.929 (0.052)	1.942 (0.324)	2.118 (0.014)	2.073 (0.026)	2.150 (0.012)	2.096 (0.015)
B	0.400 (0.001)	0.418 (0.002)	0.451 (0.005)	0.381 (0.025)	0.385 (0.002)	0.376 (0.004)	0.376 (0.016)	0.401 (0.002)	0.397 (0.004)	0.401 (0.002)	0.395 (0.002)
$S(t_{Ri})$	0.154	0.084	0.021	0.002	0.077	0.033	0.057	0.076	0.062	0.076	0.194

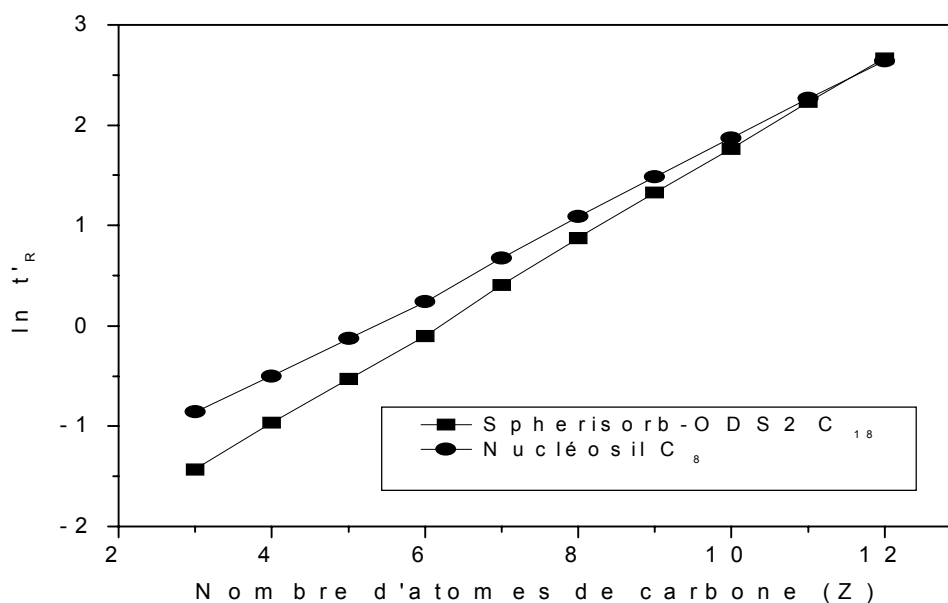


Figure 22: $\ln t'_R$ en fonction de Z pour la série des 2-Cétones (C_3 - C_{12}) sur deux colonnes.

III.2.3. Influence des conditions chromatographiques de séparation sur la variation des paramètres t_M et B :

Dans cette étude, nous présentons seulement les résultats obtenus par la multiparamétrique [10,11] où le maximum d'informations statistiques sont disponibles. Les résultats obtenus par les méthodes de Grobler [44] et Guardino [45] sont reportés en **Annexe B**.

III.2.3.A. Influence de la composition de la phase mobile :

En CLHP, la sélectivité et la durée d'une séparation dépendent avant tout de la nature de la phase mobile utilisée. Afin d'étudier l'influence de la composition de la phase mobile sur la variation des paramètres t_M et B, nous les avons déterminés en considérant différentes compositions de la phase mobile pour deux types de systèmes : méthanol-eau (55-80 % méthanol) et acétonitrile-eau (40-80 % acétonitrile). Cette étude a été réalisée sur les colonnes μ Bondapak C_{18} et Nucléosil C_8 en utilisant les trois séries homologues (2-cétones, alkylphénones et 1-nitroalcanes). Nous présentons les résultats obtenus à l'aide de la multiparamétrique et ceux obtenus expérimentalement en injectant les deux solutés supposés non retenus par la phase stationnaire : le nitrate de sodium et la thiocarbamide. L'ensemble des résultats est reporté dans les **Tableaux VIII** et **IX**. Leurs représentations graphiques sont données successivement dans les **Figures 23, 24** et **25**.

- Les écarts types sur les paramètres t_M et B ainsi que les erreurs résiduelles sur les temps de rétention sont généralement satisfaisants indiquant une bonne qualité de l'ajustement.
- Les valeurs de t_M obtenues à partir des séries 2-cétones, 1-nitroalcanes et des solutés nitrate de sodium et thiocarbamide, ont montré une variation irrégulière mais non significative. Cependant, celles estimées à partir de la série aromatique des alkylphénones ont présenté des fluctuations importantes. Ceci peut être attribué au fait que le premier homologue de la série des alkylphénones étant l'acétophénone à 8 atomes de carbone, le temps mort est alors obtenu par une extrapolation éloignée.
- Pour la μ Bondapak C₁₈, les valeurs de t_M obtenues à partir de la série des alkylphénones sont nettement plus basses que celles relevées à partir des séries 2-cétones et 1-nitroalcanes ou en utilisant les solutés nitrate de sodium et la thiocarbamide.
- Pour le système de phase acétonitrile-eau, les valeurs de t_M obtenues avec la thiocarbamide se rapprochent très sensiblement de celles données à partir de la série 2-cétones. Par contre, celles obtenues avec le nitrate de sodium sont nettement inférieures à celles obtenues par les 2-cétones, les 1-nitroalcanes ou la thiocarbamide. En effet, l'utilisation du nitrate de sodium dans la détermination de t_M peut entraîner une sous estimation du temps mort causée par un phénomène d'exclusion.
- Pour le système méthanol-eau, un écart significatif a été observé entre les valeurs de t_M déterminées à partir des 2-cétones et celles obtenues avec la thiocarbamide sur la μ Bondapak C₁₈. D'autre part, on assiste à une inversion d'ordre des valeurs de t_M obtenues à partir de la série des 1-nitroalcanes et ceux obtenues avec le nitrate de sodium. Cependant, sur la Nucléosil C₈, une situation inverse a été constatée, puisque les valeurs de t_M relevées à partir de la série des 2-cétones sont inférieures à celles observées avec la thiocarbamide.
- Les valeurs de B décroissent lorsque le pourcentage du solvant organique augmente. Pour le système acétonitrile-eau, les valeurs de B obtenues à partir de la série 2-cétones et celles obtenues à partir de la série des 1-nitroalcanes se rapprochent très sensiblement. Par contre, celles obtenues avec la série aromatique des alkylphénones sont beaucoup plus basses.

La série aromatique des alkylphénones a montré un comportement irrégulier sur les colonnes μ Bondapak C₁₈ et Nucléosil C₈ comparativement aux séries aliphatiques 2-cétones et 1-nitroalcanes. Ceci peut être attribué à la structure de ces composés puisque le noyau benzénique est lié à une chaîne aliphatique relativement courte. En conséquence, l'interaction entre le noyau benzénique et la phase stationnaire peut restreindre l'effet du groupement méthylène additionnel d'un homologue à l'autre. De même, l'effet stérique peut contribuer à faire varier le comportement de rétention de ces composés aromatiques.

Tableau VIII: Influence de la composition de la phase mobile sur la variation des valeurs de t_M et B sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

	% Méthanol						% Acétonitrile								
	55	60	65	70	75	80	40	45	50	55	60	65	70	75	80
2-Cétones															
$t_M(\text{MP})^a$	3.007 (0.039)	2.972 (0.039)	3.068 (0.013)	3.056 (0.013)	3.021 (0.004)	2.964 (0.018)	2.743 (0.041)	2.724 (0.001)	2.620 (0.009)	2.705 (0.038)	2.726 (0.090)	2.739 (0.030)	2.776 (0.022)	2.746 (0.066)	2.791 (0.117)
B (MP)	0.740 (0.011)	0.665 (0.001)	0.701 (0.004)	0.641 (0.008)	0.622 (0.003)	0.553 (0.006)	0.568 (0.003)	0.521 (0.001)	0.466 (0.001)	0.421 (0.004)	0.397 (0.020)	0.349 (0.005)	0.339 (0.004)	0.313 (0.017)	0.310 (0.039)
S(t_{Ri})	0.440	0.403	0.817	0.340	0.381	0.191	0.005	0.007	0.046	0.008	0.014	0.004	0.010	0.009	0.005
Alkylphénones															
$t_M(\text{MP})$	2.615 (0.238)	2.573 (0.212)	2.534 (0.228)	2.462 (0.438)	2.368 (0.882)	2.589 (0.089)	1.817 (0.174)	2.057 (0.304)	2.246 (0.070)	1.905 (0.001)	1.923 (0.004)	2.015 (0.434)	2.049 (0.507)	2.055 (0.250)	2.190 (0.515)
B (MP)	0.629 (0.014)	0.570 (0.017)	0.496 (0.023)	0.467 (0.049)	0.403 (0.111)	0.397 (0.013)	0.501 (0.007)	0.465 (0.014)	0.417 (0.004)	0.340 (0.001)	0.298 (0.001)	0.268 (0.036)	0.238 (0.046)	0.204 (0.024)	0.186 (0.057)
S(t_{Ri})	0.432	0.306	0.163	0.111	0.079	0.055	0.183	0.140	0.102	0.006	0.056	0.046	0.023	0.017	0.012
1-Nitroalcanes															
$t_M(\text{MP})$	2.698 (0.030)	2.677 (0.042)	2.655 (0.019)	2.662 (0.004)	2.650 (0.014)	2.657 (0.006)	2.653 (0.045)	2.398 (0.008)	2.450 (0.036)	2.509 (0.058)	2.494 (0.116)	2.493 (0.045)	2.507 (0.197)	2.500 (0.039)	2.525 (0.005)
B (MP)	0.717 (0.010)	0.645 (0.018)	0.544 (0.009)	0.545 (0.001)	0.478 (0.008)	0.450 (0.003)	0.625 (0.008)	0.518 (0.001)	0.467 (0.006)	0.460 (0.010)	0.383 (0.024)	0.344 (0.009)	0.331 (0.042)	0.295 (0.008)	0.293 (0.002)
S(t_{Ri})	0.038	0.076	0.052	0.004	0.033	0.009	0.096	0.052	0.070	0.066	0.024	0.011	0.009	0.009	0.028
$t_M(\text{Nitrate sodium})^b$	2.712	2.695	2.698	2.680	2.701	2.689	2.466	2.392	2.390	2.389	2.384	2.466	2.389	2.498	2.515
$t_M(\text{Thiocarbamide})^c$	2.787	2.795	2.777	2.799	2.790	2.845	2.690	2.674	2.685	2.704	2.653	2.705	2.661	2.722	2.757

(a) (MP) Méthode multiparamétrique [10,11] où les paramètres sont donnés avec leurs écarts types entre parenthèses.

(b) Temps mort expérimental obtenu par injection du nitrate de sodium.

(c) Temps mort expérimental par injection de la thiocarbamide.

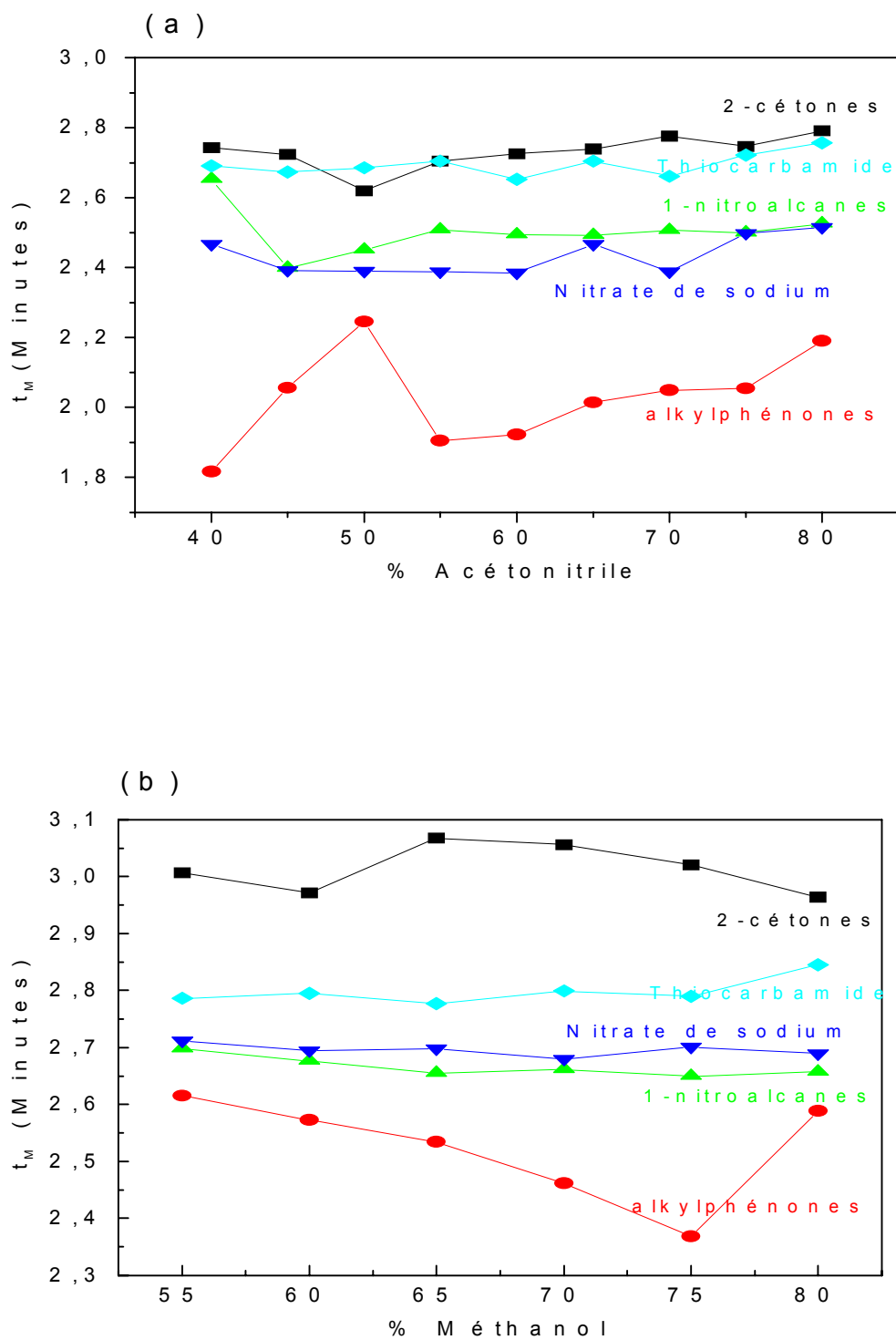


Figure 23: Influence de la composition de la phase mobile sur la variation de t_M sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

(a) Système de phase : acétonitrile-eau.

(b) Système de phase : méthanol-eau.

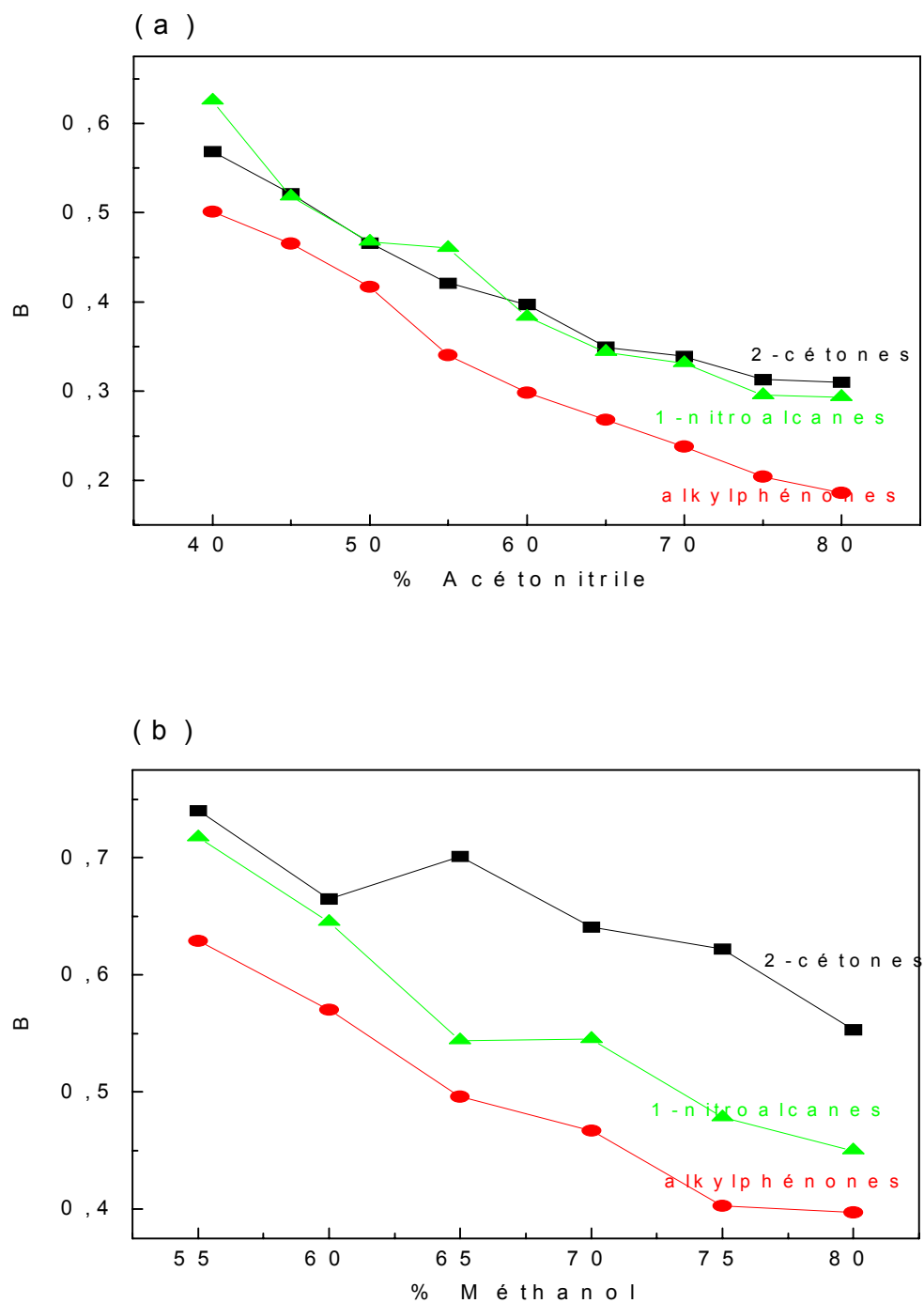


Figure 24: Influence de la composition de la phase mobile sur la variation de B sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

(a) Système de phase : acétonitrile-eau.

(b) Système de phase : méthanol-eau.

Tableau IX: Influence de la composition de la phase mobile sur la variation des valeurs de t_M et B sur la colonne Nucleosil C₈.

% méthanol	50	55	60	65	70
2-Cétones					
t_M(MP)^a	2.258 (0.001)	2.215 (0.001)	2.157 (0.022)	2.127 (0.001)	2.143 (0.034)
B (MP)	0.810 (0.001)	0.712 (0.001)	0.631 (0.004)	0.553 (0.001)	0.494 (0.009)
S(t_{Ri})	0.027	0.200	0.088	0.029	0.025
Alkylphénones					
t_M(MP)	3.104 (0.005)	2.747 (0.006)	2.330 (0.028)	2.138 (0.097)	2.241 (0.027)
B (MP)	0.761 (0.001)	0.679 (0.001)	0.599 (0.002)	0.519 (0.012)	0.446 (0.044)
S(t_{Ri})	0.236	0.123	0.094	0.067	0.334
t_M(Nitrate de sodium)^b	2.132	2.123	2.039	2.093	2.108
t_M(Thiocarbamide)^c	2.334	2.319	2.299	2.313	2.215

(a) (MP) : Méthode multiparamétrique [10,11] où les paramètres sont donnés avec leurs écarts types entre parenthèses .

(b) Temps mort expérimental obtenu par injection du nitrate de sodium.

(c) Temps mort expérimental par injection de la thiocarbamide.

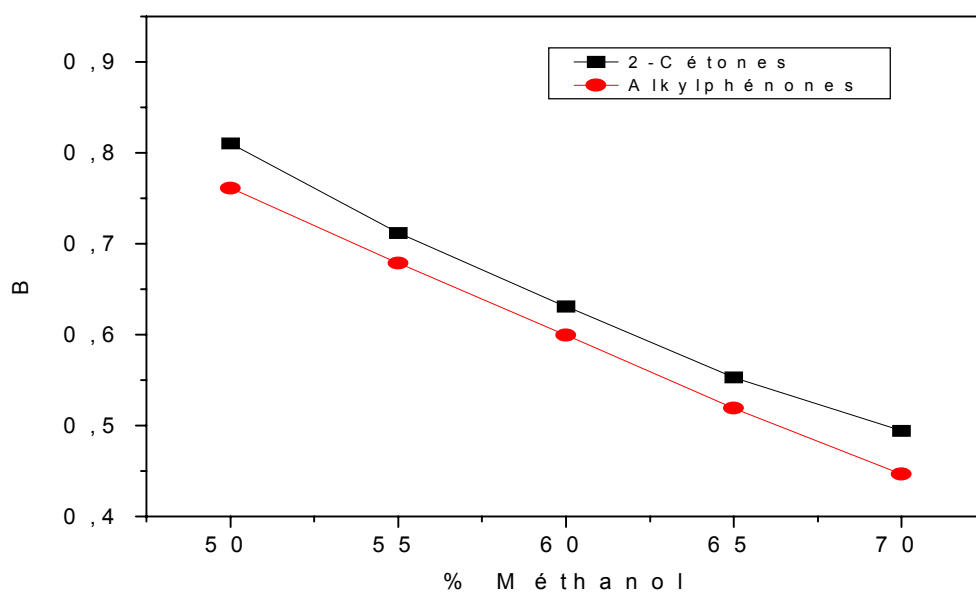
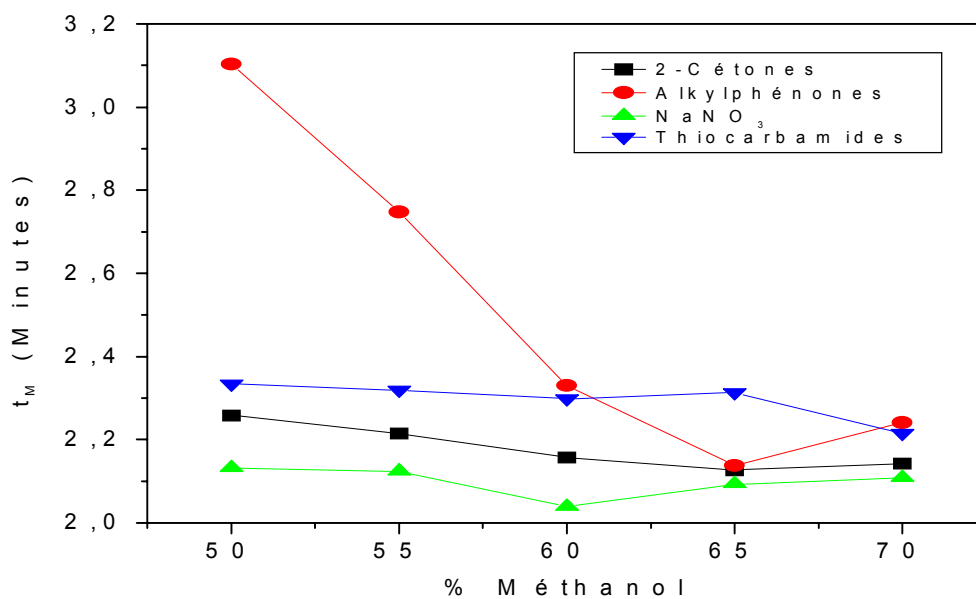


Figure 25: Influence de la composition de la phase mobile sur la variation des valeurs de t_M et B sur la Nucléosil C₈.

III.2.3.B. Effet de la température de la colonne :

Généralement, en CLHP, les analyses chromatographiques s'effectuent à température ambiante. Néanmoins, dans la pratique, il est toutefois souvent avantageux d'augmenter la température des séparations afin d'accroître l'efficacité de la colonne et, par suite, la résolution, même si, parfois, la sélectivité est légèrement diminuée.

L'étude de l'influence de la température sur la variation des valeurs de t_M et B a été entreprise. Pour cela, plusieurs séries d'analyse ont été effectuées, à diverses températures de la colonne (30°C à 60°C à raison de 5°C d'intervalle). Notons que, les phases stationnaires à base de silice, en l'occurrence celles utilisées dans le cadre de cette étude, sont généralement stables thermiquement jusqu'à une température de 80°C.

L'ensemble des résultats obtenus sur les colonnes Spherisorb-ODS2 C₁₈ et Nucléosil C₈ sont consignés dans le **Tableau X**. Les représentations graphiques de ces variations sont illustrées sur les **Figures 26** et **27**. En examinant l'ensemble des résultats obtenus, nous pouvons tirer les constatations suivantes :

- Les écarts types sur les valeurs de t_M et B ainsi que les erreurs résiduelles sur les temps de rétention sont généralement satisfaisantes indiquant une bonne qualité de l'ajustement.
- L'examen de la **Figure 26**, nous montre que les valeurs de t_M obtenues sur la colonne Spherisorb-ODS2 C₁₈ à partir de la série aromatique des alkylphénones présentent une variation irrégulière, alors que, celles déterminées sur la colonne Nucléosil C₈ à partir de la même série homologue diminuent lorsque la température de la colonne augmente. Les valeurs de t_M déterminées à partir des deux séries aliphatiques 2-cétones et 1-nitroalcanes, ont montré une variation non monotone mais sensiblement faible avec la température de la colonne.
- Une augmentation de la température, entraîne une diminution des valeurs de B, à l'exception de la valeur de B obtenue à 60°C sur la colonne Spherisorb-ODS2 C₁₈ à partir de la série des alkylphénones. Ces résultats confirment encore une fois, le comportement irrégulier de la série aromatique des alkylphénones.

Tableau X: Effet de la température sur la variation des valeurs de t_M et B déterminées par la méthode multiparamétrique (MP).
(composition de la phase mobile 51:49 (v/v) en méthanol-tampon phosphate ; pH 3.80).

Colonne	Spherisorb-ODS2 C ₁₈							Nucleosil C ₈				
	Température (°C)	30	35	40	45	50	55	60	30	40	50	60
2-cétones												
t_M (MP)^a		1.943 (0.024)	1.922 (0.018)	1.947 (0.010)	1.981 (0.009)	1.972 (0.005)	1.986 (0.005)	1.995 (0.003)	2.303 (0.013)	2.201 (0.018)	2.184 (0.004)	2.205 (0.002)
B (MP)		0.761 (0.005)	0.746 (0.005)	0.717 (0.001)	0.722 (0.001)	0.714 (0.001)	0.709 (0.001)	0.708 (0.001)	0.744 (0.002)	0.729 (0.002)	0.698 (0.001)	0.662 (0.001)
S(t_{Ri})		0.285	0.233	0.171	0.057	0.056	0.062	0.098	0.569	0.548	0.404	0.414
Alkylphénones												
t_M (MP)		2.301 (0.136)	2.248 (0.311)	2.256 (0.017)	1.843 (0.663)	1.679 (0.224)	1.350 (0.021)	2.405 (0.022)	2.937 (0.007)	2.339 (0.138)	2.176 (0.168)	2.100 (0.131)
B (MP)		0.685 (0.008)	0.671 (0.017)	0.668 (0.001)	0.645 (0.005)	0.624 (0.203)	0.580 (0.001)	0.684 (0.002)	0.704 (0.001)	0.673 (0.010)	0.646 (0.014)	0.626 (0.010)
S(t_{Ri})		0.352	0.188	0.333	0.321	0.341	0.737	0.415	0.167	0.151	0.137	0.105
1-Nitroalcanes												
t_M (MP)		1.836 (0.106)	1.830 (0.001)	1.828 (0.007)	1.782 (0.005)	1.770 (0.004)	1.770 (0.005)	1.765 (0.003)	2.219 (0.014)	2.134 (0.001)	2.071 (0.002)	2.068 (0.002)
B (MP)		0.719 (0.003)	0.709 (0.001)	0.679 (0.003)	0.680 (0.001)	0.676 (0.001)	0.668 (0.002)	0.663 (0.001)	0.730 (0.003)	0.713 (0.001)	0.688 (0.001)	0.675 (0.001)
S(t_{Ri})		0.023	0.029	0.040	0.013	0.033	0.023	0.014	0.013	0.013	0.013	0.023

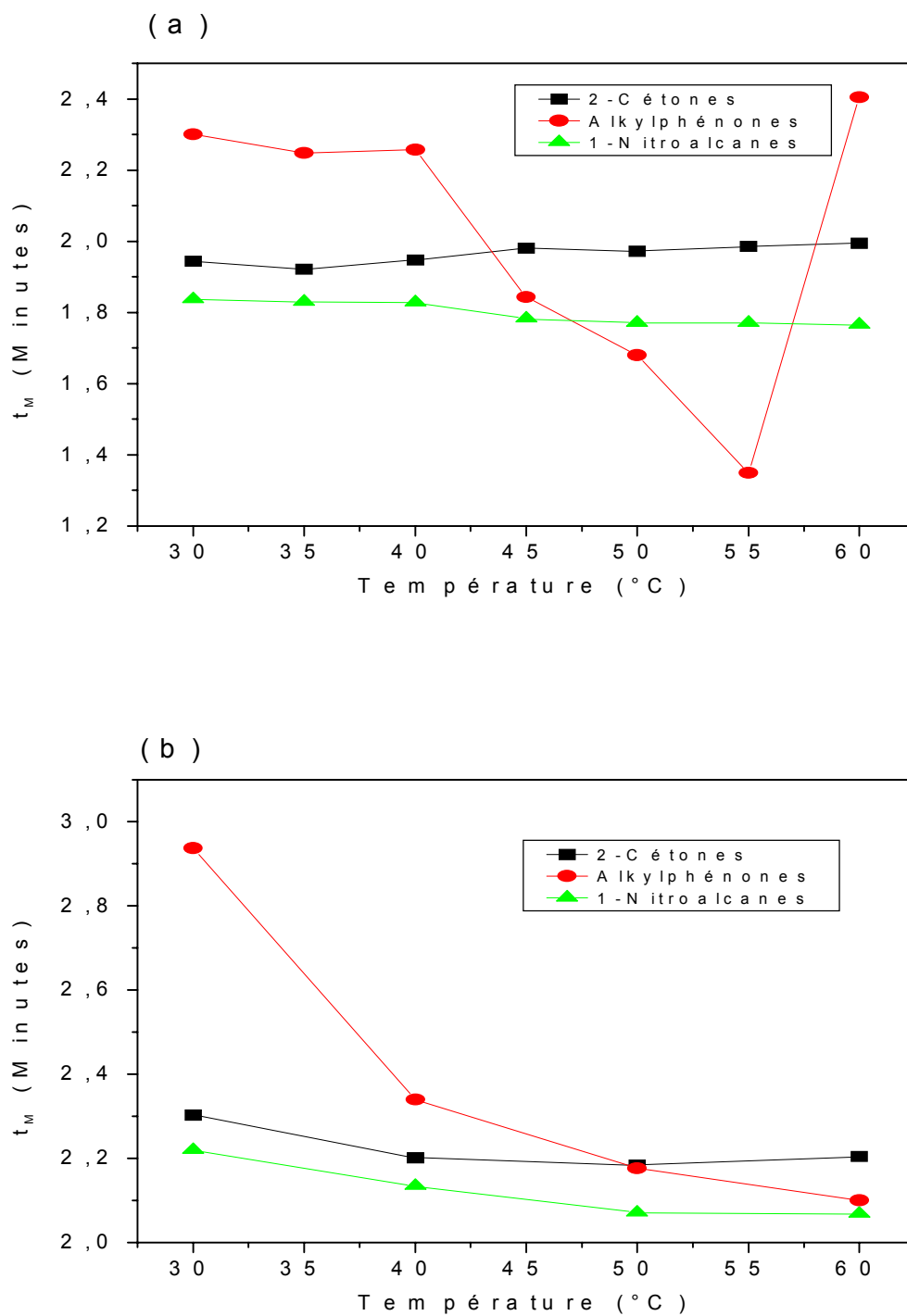


Figure 26: Effet de la température de la colonne sur la variation de t_M .

(a) Colonne Spherisorb-ODS2 C₁₈.

(b) Colonne Nucleosil C₈.

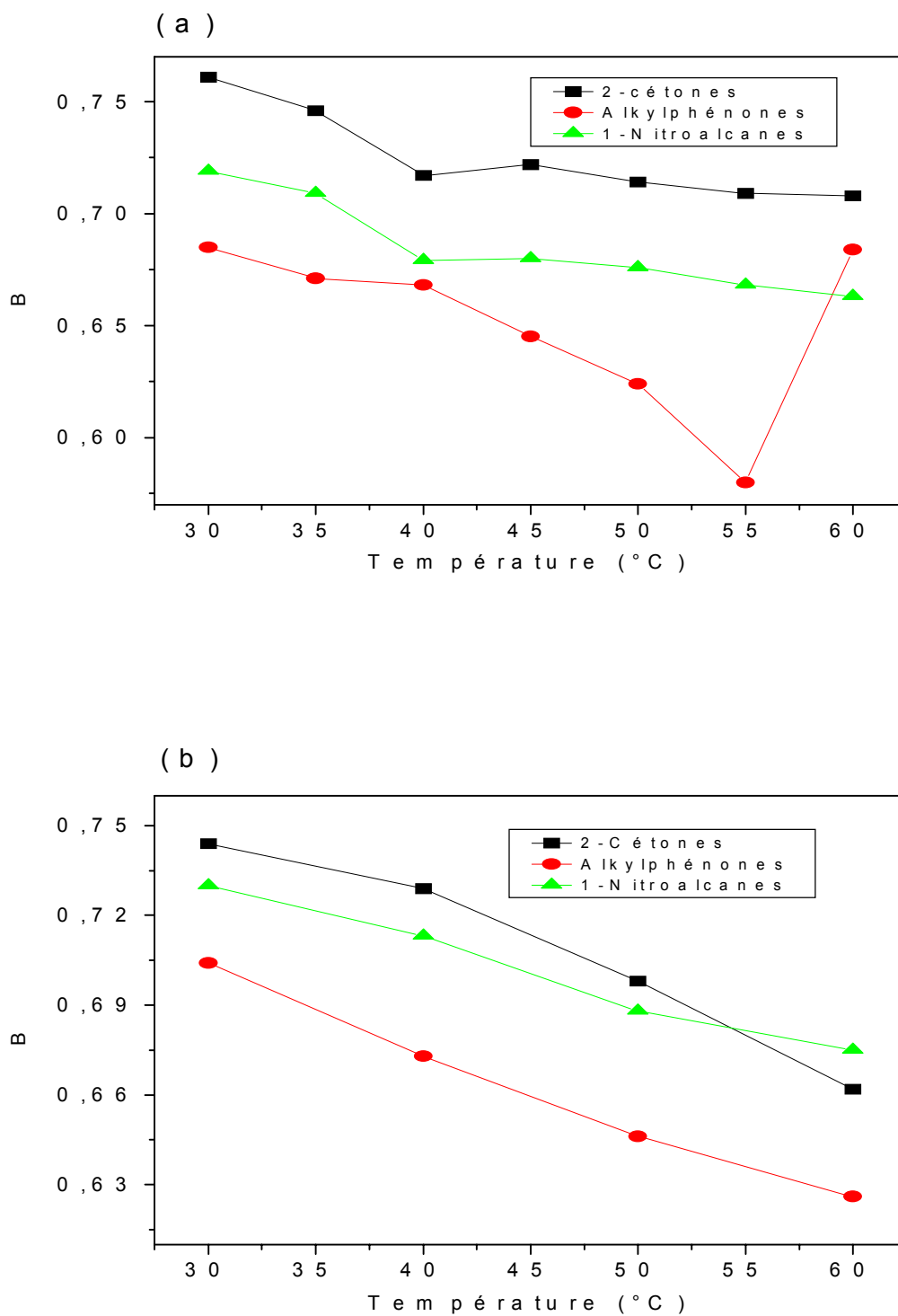


Figure 27: Effet de la température de la colonne sur la variation de B.

(a) Colonne Spherisorb-ODS2 C₁₈.

(b) Colonne Nucleosil C₈.

III.2.3.C. Influence de la nature du matériau de remplissage de la colonne :

En CLHP, les phases stationnaires octyle et octadécyle modifiées (silices greffées alkyle) sont les plus utilisées dans l'analyse de plusieurs mélanges complexes. Cependant, les propriétés de ces phases dépendent étroitement du processus de leur fabrication. La reproductibilité des séparations n'est assurée que si la phase stationnaire elle-même est reproductible (nature de la silice de départ, surface hydrocarbonée greffée,..). Les phases stationnaires commerciales peuvent avoir des propriétés différentes puisqu'elles sont influencées par les différentes étapes du processus de leur fabrication. En conséquence, les matériaux obtenus sont alors différents d'un fabricant à l'autre.

Dans le but d'étudier la qualité de la reproductibilité des valeurs de t_M et B sur divers matériaux, des analyses ont été réalisées sur neuf colonnes C_{18} . Ces dernières sont nominalement équivalentes mais de provenance différente (différents fabricants).

Afin d'avoir une bonne reproductibilité des résultats, les mesures ont été effectuées dans des conditions chromatographiques identiques. Pour faciliter la comparaison des résultats, nous avons regroupé les 9 colonnes, en deux groupes :

- Colonne du groupe A : μ Bondapak, Nucléosil (Chrompack) et Supelcosil.
- Colonne du groupe B : Spherisorb-ODS2, Ultrasep ES EX, Eurospher, Nucléosil(100), Nucléosil (120) et Nucléosil (densité élevée).

Les colonnes C_{18} du groupe B ont des dimensions identiques (longueur : 250 mm ; diamètre interne : 4 mm ; dimension des particules : 5 μ m et dimension des pores : 100 Å) à l'exception de la Nucléosil (100) et la Nucléosil (120) où seulement la dimension des pores des particules de la phase stationnaire est différente. Les dimensions des colonnes du groupe A sont différentes (**Tableau III**).

Les valeurs de t_M et B déterminées à l'aide des séries 2-cétones et alkylphénones sont consignées dans le **Tableau XI**.

- Les critères statistiques (écarts types et erreurs résiduelles) montrent un ajustement satisfaisant sur les neuf colonnes.

- Les valeurs de t_M et B obtenues sur les trois colonnes du groupe A se rapprochent très sensiblement. La même constatation a été relevée sur les 6 colonnes du groupe B. Cependant, une différence significative a été observée pour les valeurs de t_M et B obtenues sur les colonnes du groupe A comparativement à celles relevées sur les colonnes du groupe B.

Tableau XI: Comparaison des valeurs de t_M et B obtenues sur divers matériaux C_{18} par la méthode multiparamétrique (MP).
(composition de phase mobile 65:35 (v/v) en méthanol-eau).

		Colonnes Octadécyl-silice C_{18}							
		Groupe A					Groupe B		
Matériaux	Spherisorb-ODS2	UltraSepES EX	Eurospheer	Nucléosil (100)	Nucléosil (120)	Nucléosil (densité élevée)	μ Bondapak	Supelcosil	Nucléosil
Fabricant	Hewlett Packard	SepServ	Knauer	Macherey-Nagel	Macherey-Nagel	Macherey-Nagel	Waters Ass.	Supelco	Chrompack
2-Cétones									
t_M (MP) ^a	2.151 (0.021)	1.839 (0.006)	1.947 (0.002)	2.297 (0.004)	1.999 (0.005)	2.023 (0.001)	3.184 (0.001)	3.066 (0.004)	3.119 (0.018)
B (MP)	0.640 (0.005)	0.610 (0.002)	0.688 (0.005)	0.596 (0.001)	0.627 (0.001)	0.617 (0.001)	0.582 (0.001)	0.642 (0.001)	0.565 (0.006)
S(t_{Ri})	0.008	0.085	0.008	0.013	0.008	0.023	0.015	1.161	0.027
Alkylphénones									
t_M (MP)	--	2.075 (0.003)	2.061 (0.180)	2.698 (0.048)	2.043 (0.001)	--	2.805 (0.342)	3.278 (0.139)	3.247 (0.013)
B (MP)	--	0.541 (0.001)	0.626 (0.011)	0.583 (0.003)	0.581 (0.001)	--	0.506 (0.042)	0.500 (0.014)	0.512 (0.003)
S(t_{Ri})	--	0.142	0.388	0.169	0.136	--	0.087	0.672	0.130

a) (MP) : Méthode multiparamétrique [10,11] où les paramètres sont donnés avec leurs écarts types.

III.3. Conclusion:

En CLHP, l'application de la méthode multiparamétrique a conduit à l'obtention des paramètres de régression t_M et B de bonne qualité pour diverses conditions chromatographiques de séparation. Ces derniers sont en bon accord avec ceux obtenus à partir de la méthode itérative de Guardino et la méthode statistique de Grobler. Les informations statistiques obtenues par les méthodes multiparamétrique et Guardino sont généralement satisfaisantes. Cependant, la méthode de Grobler a présenté des valeurs plus élevées.

Dans les conditions expérimentales de ce travail, nous avons relevé une variation faible mais de sens non monotone des valeurs du temps mort t_M en fonction de la composition de la phase mobile et de la température de la colonne pour les séries aliphatiques 2-cétones et 1-nitroalcanes. Néanmoins, la série aromatique alkylphénones a montré un comportement irrégulier. Le temps mort évalué expérimentalement en injectant le soluté nitrate de sodium est inférieur à celui estimé par les autres méthodes mathématiques à partir des séries homologues 2-cétones et 1-nitroalcanes, alors que la thiocarbamide donne des valeurs de t_M de même ordre de grandeur que celles obtenues à partir des 2-cétones.

En comparant les valeurs de t_M et B obtenues sur les divers matériaux C_{18} , nous avons relevé certaines fluctuations.

Une augmentation de la température de la colonne ou de la proportion du solvant organique dans la phase mobile a entraîné une diminution des valeurs de B.

IV.1. Introduction :

En chromatographie, pour l'identification des substances inconnues, les données de rétention rapportées à un standard arbitraire simple furent à l'origine des méthodes les plus couramment utilisées [77-79]. Par la suite, la rétention relative a été peu utilisée compte tenu des difficultés rencontrées à l'usage des substances de référence très différentes. Pour surmonter toutes ces difficultés, en 1958 Kovàts a introduit le système des indices de rétention [1]. Depuis, ce système est largement utilisé en CPG comme moyen de reproduction des données de rétention en analyse qualitative, dans la caractérisation des phases stationnaires et dans les corrélations propriétés-structures des composés chimiques. La différence essentielle existant entre les données de rétention relatives et le système des indices de rétention est que, dans ce dernier, la rétention d'une substance donnée est exprimée dans une échelle uniforme déterminée par les termes d'une série d'homologues utilisés comme substances de référence.

IV.2. Méthodes de calcul des indices de rétention :

Le calcul des indices de rétention est basé sur l'équation IV1 présumée linéaire. Cette relation s'applique, d'une façon générale, pour toutes séries homologues.

$$\ln t'_{Ri} = \ln (t_{Ri} - t_M) = b.Z_i + c \quad (\text{IV1})$$

➤ Obtention des indices de rétention à partir de la méthode de Kovàts :

En CPG, Kovàts [1] a utilisé cette dernière pour définir un système général constituant une échelle de référence, dans lequel tout soluté peut être repéré par rapport à deux homologues l'encadrant sur le chromatogramme. Ainsi, pour un soluté quelconque, la connaissance de son temps de rétention corrigé (t'_{Ri}), permet de déterminer par interpolation sur cette droite, un nombre d'atomes de carbone hypothétique appelé indice de rétention égal à 100 fois le nombre d'atomes de carbone réel. Chaque soluté « x » peut donc être classé par rapport à une série d'homologues par son indice de rétention (I_x) par la relation IV2. En CPG, les points fixes dans l'échelle des indices de rétention de Kovàts est la série des n-alcanes :

$$I_x = 100.Z_i + 100 \frac{\ln t'_{R(x)} - \ln t'_{R(z)}}{\ln t'_{R(z+1)} - \ln t'_{R(z)}} \quad (\text{IV2})$$

Avec $t'_{R(x)}$: temps de rétention corrigé du soluté (x) étudié.

$t'_{R(z)}$: temps de rétention corrigé de l'alcane à (Z) atomes de carbone qui précède le soluté (x).

$t'_{R(z+1)}$: temps de rétention corrigé de l'alcane à (Z+1) atomes de carbone qui suit le soluté (x).

➤ **Obtention des indices de rétention à partir des paramètres de la régression t_M et B:**

La plupart des méthodes mathématiques utilisées pour le calcul des indices de rétention reposent sur l'équation IV1, c'est le cas de la méthode statistique de Grobler et la méthode itérative de Guardino [44,45]. Il en découle que, l'indice de rétention de n'importe quel soluté peut être obtenu à l'aide des paramètres (t_M et b) fournis par la régression sur l'équation IV1. De ces résultats, nous pouvons tirer le nombre d'atomes de carbone hypothétique Z_i :

$$Z_i = \frac{\ln(t_{Ri} - t_M) - c}{b} \quad (\text{IV3})$$

L'indice I_x d'une substance « x » est alors obtenu à partir de l'équation IV4 :

$$I_x = 100 \frac{\ln(t_{Ri} - t_M) - c}{b} \quad (\text{IV4})$$

La méthode statistique multiparamétrique [10,11] que nous avons développée dans ce travail est basée sur l'équation IV1 réécrite sous la forme:

$$(t_{Ri} - t_M) = A \cdot \exp(B \cdot Z_i) \quad \text{avec } A = e^c \text{ et } B = b \cdot \ln 10 \quad (\text{IV5})$$

L'équation IV5 devient alors :

$$I_x = \frac{100}{B} \ln \frac{(t_{Ri} - t_M)}{A} \quad (\text{IV6})$$

La détermination des indices de rétention repose sur l'évaluation correcte de la valeur du temps de rétention corrigé (t'_{Ri}). Cette dernière reste sujette à une bonne estimation du temps mort de la colonne (t_M).

Comme nous l'avons signalé auparavant, en CPG, le système des indices de rétention de Kovats est largement utilisé dans l'identification des substances inconnues. Cependant, le concept similaire n'a pas été accepté en CLHP. De ce fait, plusieurs méthodes mathématiques ont été proposées pour la détermination des indices de rétention. Ces méthodes sont généralement basées sur la linéarisation des séries homologues [76-113]. Parmi ces dernières, trois séries ont été appliquées à la détermination des indices de rétention de nombreux produits pharmaceutiques et drogues, telles que les séries 2-cétones, alkylphénones et 1-nitroalcanes [82-113]. Notons que, ces indices ont été calculés par la méthode de Kovats

(équation IV2) en déterminant expérimentalement le temps mort de la colonne et ceci en injectant un soluté supposé non retenu par la phase stationnaire qui est le nitrate de sodium.

Dans ce présent chapitre, les indices de rétention d'une vingtaine de composés organiques nitrés (**Tableau I**) ont été déterminés par la méthode multiparamétrique (MP) [10,11]. Afin d'apprécier la validité du calcul des indices de rétention par cette méthode, nous les avons comparés aux résultats obtenus en utilisant les méthodes suivantes :

- La méthode de Kovats (KO) [1].
- La méthode de Guardino (GU) [45].
- La méthode de Grobler (GR) [44].

Notons que, parmi les méthodes mathématiques retenues, seule la méthode de régression multiparamétrique permet d'obtenir l'indice de rétention avec son écart type $s(I)$. Ce dernier servira à comparer les méthodes entre elles afin d'évaluer l'intervalle de confiance.

Trois séries homologues aliphatiques et aromatiques, en l'occurrence les 2-cétones, les alkylphénones et les 1-nitroalcanes ont été examinées comme série homologue de référence pour la détermination des indices de rétention d'une vingtaine de composés organiques nitrés aromatiques et non aromatiques répartis en deux mélanges :

- Solutés neutres : nitramines, nitroaromatiques et aminonitroaromatiques.
- Solutés acides : nitrophénols.

Les indices de rétention calculés par la multiparamétrique ont été étudiés sur un ensemble de sept colonnes chromatographiques (**Tableau III**) :

- Six colonnes Octadecyl-silice C_{18} (divers matériaux de remplissage de la colonne).
- Une colonne Octyl-silice C_8 .

Afin de juger la robustesse des indices de rétention obtenus par notre méthode en fonction d'une légère variation des conditions chromatographiques de séparation et d'identifier ainsi les variables qu'ils faudrait strictement contrôler pour l'obtention des résultats reproductibles, nous avons étudié les facteurs suivants :

- Le choix de la série homologue de référence (2-cétones, alkylphénones et 1-nitroalcanes).
- La composition, débit et pH de la phase mobile.
- La température de la colonne.
- La nature du matériau de remplissage de la colonne.

IV.3. Résultats et discussion :

IV.3.1. Comparaison des indices de rétention des composés organiques nitrés déterminés par diverses méthodes mathématiques :

Les indices de rétention d'une vingtaine de composés nitrés ont été calculés à l'aide des quatre méthodes mathématiques (MP, GU, GR et KO). Les indices de rétention calculés par la méthode multiparamétrique sont obtenus avec leurs écarts types. Nous avons utilisé le nitrate de sodium pour la détermination du temps mort expérimental quand la méthode de Kovats est appliquée. Les indices de rétention ont été exprimés dans trois échelles :

- L'échelle des 2-cétones ($C_4 - C_9$).
- L'échelle des alkylphénones ($C_8 - C_{11}$).
- L'échelle des 1-nitroalcanes ($C_1 - C_6$).

L'examen des résultats obtenus (**Tableau XII**) sur la colonne Spherisorb-ODS2 C_{18} (solutés neutres) et la colonne UltraSepESEX C_{18} (solutés acides), permet les constatations suivantes :

- Les indices de rétention obtenus à l'aide des quatre méthodes (MP, GU, GR et KO) sont en bon accord, notamment ceux calculés dans l'échelle des 1-nitroalcanes, où la différence entre les valeurs d'indices de l'ensemble des solutés n'excède pas 3.3 unités d'indices (u.i.). Cependant, nous avons relevé une variation relativement plus élevée (0.1 – 19.6) concernant les indices calculés dans l'échelle des alkylphénones et celle des 2-cétones.
- Le soluté octogène a présenté des écarts d'indices élevés dans l'échelle des 2-cétones et celle des alkylphénones où une variation atteignant 44.7 u.i. a été relevée. Par contre, dans l'échelle des 1-nitroalcanes, une variation qui n'excède pas 1.5 u.i. a été obtenue. Ceci est certainement dû à la faible rétention de l'octogène par la colonne qui entraînerait une erreur relative considérable sur les temps de rétention et par la suite sur les indices de rétention.
- Les écarts types sur les indices de rétention de l'ensemble des solutés calculés par la multiparamétrie dans les trois échelles d'indices sont satisfaisants (0.1 - 2.9 u.i.).
- Dans le cas où les indices de rétention sont exprimés dans l'échelle des 2-cétones ou bien celle des alkylphénones, pour certains solutés, le calcul des indices de rétention par la méthode de Kovats a été impossible. En effet, étant donné que le premier homologue de la série des alkylphénones est l'acétophénone (théoriquement son indice doit être égal à 800 u.i.), le calcul des indices des solutés élués avant l'acétophénone ne peut pas être effectué, puisque ces derniers ne sont pas encadrés par deux homologues. Par conséquent, le calcul des

indices de rétention des solutés suivants : octogène, hexogène, 1,3,5-TNB, Tetryl, 4-NP, 3-NP et 2,4-DNP s'avère impossible dans l'échelle des alkylphénones.

Le même problème s'est posé pour le calcul de l'indice du soluté octogène dans l'échelle des 2-cétones (le premier homologue de la série des 2-cétones utilisée dans ce travail étant la butanone RI = 400). Par contre, concernant l'échelle des 1-nitroalcanes, le calcul des indices de l'ensemble des solutés a été effectué aisément (le premier homologue de la série étant le 1-nitrométhane RI = 100).

- Le calcul des indices de rétention de l'ensemble des solutés a été effectué sans difficultés en utilisant les trois méthodes mathématiques (MP, GU et GR). Ces dernières présentent un avantage certain par rapport à la méthode de Kovats puisque dans le cas de cette méthode les valeurs du temps mort sont déterminées par une méthode expérimentale (nitrate de sodium) qui peut être une source d'erreur significative.

- Comme on peut bien le constater à travers le **Tableau XII**, les indices de rétention de l'ensemble des solutés neutres et acides dépendent de la nature de la série homologue de référence considérée. Pour l'ensemble des composés organiques nitrés étudiés, les indices de rétention peuvent être classés dans l'ordre suivant :

Indice (alkylphénones) > Indice (2-cétones) > Indice (1-nitroalcanes)

• ***Écarts d'indices entre les diverses échelles :***

Afin d'établir les relations qui lient les indices de rétention de l'ensemble des solutés calculés dans les trois échelles d'indices (2-cétones (CO), alkylphénones (ACO) et 1-nitroalcanes (NO₂)), dans le **Tableau XIII**, nous avons reporté les écarts d'indice (ΔI) entre les trois séries. Nous constatons que les écarts d'indices obtenus entre les trois échelles sont généralement stables. En effet, une bonne corrélation a été observée entre l'ensemble des trois séries d'indices (**Tableau XIV**). A titre d'exemple, la corrélation linéaire des valeurs des indices de rétention obtenues dans l'échelle des 2-cétones avec celles obtenues dans l'échelle des 1-nitroalcanes, nous a donné un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9997$ pour les solutés neutres et $R^2 = 1$ pour les solutés acides. A travers ces différentes remarques, nous pouvons constater, qu'en établissant les équations de corrélation, il est bien possible de transformer les indices de rétention d'une échelle à une autre.

Tableau XII: Comparaison des indices de rétention (I) des composés organiques nitrés obtenus par 4 méthodes mathématiques. (composition de la phase mobile 55:45 (v/v) en méthanol-eau pour les solutés neutres et 55:45 (v/v) en méthanol-tampon phosphate pH 2.64 pour les solutés acides).

Série	Echelle d'Indice de Rétention											
	2-Cétones				Alkylphénones				1-Nitroalcanes			
Méthode	I(MP) ^a	I(GU)	I(GR)	I(KO)	I(MP)	I(GU)	I(GR)	I(KO)	I(MP)	I(GU)	I(GR)	I(KO)
Solutés neutres												
Octogène	290.5 (9.6)	316.8	335.2	--	464.7 (9.2)	484.6	506.1	--	161.8 (9.5)	163.3	163.2	162.6
Hexogène	528.2 (1.0)	526.8	523.8	519.8	677.5 (1.5)	679.8	683.5	--	325.7 (1.2)	325.9	325.0	326.6
1,3,5-TNB	578.5 (0.4)	576.2	572.4	582.4	732.8 (1.4)	733.6	735.4	--	372.8 (0.8)	372.8	372.1	372.9
Tetryl	615.2 (0.5)	612.7	608.9	620.0	774.4 (2.1)	774.4	775.3	--	408.9 (0.8)	408.9	408.3	408.8
1,3-DNB	643.5 (0.1)	641.0	637.5	645.1	807.1 (1.2)	806.7	807.0	807.2	437.5 (0.6)	437.5	437.0	437.5
2,4,6-TNT	661.6 (0.1)	659.2	655.9	661.5	828.1 (1.0)	827.6	827.6	827.1	456.1 (0.6)	456.0	455.7	456.2
4-A-2,6-DNT	689.5 (0.6)	687.3	684.5	687.1	860.7 (1.4)	860.1	859.8	858.3	485.1 (0.9)	485.1	485.0	485.5
2-A-4,6-DNT	694.5 (0.9)	692.5	689.7	691.8	866.7 (1.6)	866.1	865.8	864.1	490.4 (1.1)	490.4	490.3	490.9
2,6-DNT	714.0 (0.3)	712.2	709.9	710.9	889.7 (1.3)	889.0	888.6	886.3	511.0 (0.6)	511.0	511.1	511.4
2,4-DNT	734.1 (0.2)	732.6	730.8	731.7	913.7 (1.3)	913.0	912.5	910.5	532.4 (0.6)	532.5	532.7	532.6
2-NT	757.0 (0.4)	755.9	754.7	755.6	941.0 (1.4)	940.4	939.9	938.9	557.0 (0.8)	557.1	557.6	556.9
4-NT	771.1 (0.3)	770.3	769.5	770.3	957.9 (1.3)	957.4	956.9	958.2	572.3 (0.7)	572.3	572.9	572.0
3-NT	780.3 (0.3)	779.6	779.0	779.9	968.8 (1.3)	968.4	967.9	970.1	582.2 (0.8)	582.2	582.9	581.8
DPA	864.6 (0.5)	865.7	868.0	864.6	1070.6 (1.2)	1070.8	1070.9	1070.8	674.4 (1.3)	674.7	674.2	673.5
Solutés acides												
4-NP	548.8 (2.8)	551.8	549.2	556.2	724.9 (2.9)	721.4	724.0	--	365.0 (2.7)	362.3	361.7	362.0
3-NP	565.9 (2.1)	569.5	566.8	582.6	742.7 (2.4)	739.9	741.9	--	381.5 (2.0)	378.9	378.4	379.1
2,4-DNP	591.1 (1.7)	595.3	592.7	610.7	769.2 (2.6)	767.4	768.6	--	406.0 (1.7)	403.5	403.0	404.3
4-M-2,6-DNP	635.5 (1.1)	639.8	637.8	644.9	816.4 (1.5)	816.0	816.2	816.3	449.0 (1.1)	447.1	446.8	448.7
3,5-DNP	681.4 (1.0)	684.9	683.9	680.2	865.8 (1.8)	866.3	866.0	864.4	493.5 (0.9)	492.3	492.3	494.7
2-M-4,6-DNP	737.9 (0.5)	739.8	740.2	733.5	927.4 (1.9)	928.6	928.0	927.2	548.3 (0.4)	548.4	548.7	548.9

(a) (MP) : méthode multiparamétrique [10,11] où les écarts types sur les indices sont donnés entre parenthèses [10,11].

(GU) : méthode de Guardino [45] ; (GR) : méthode de Grobler [44], (KO) : méthode de Kováts [1] où le temps mort de la colonne a été déterminé par injection du NaNO₃.

Tableau XIII: Ecarts d'indices (ΔI).

	Ecarts d'Indices (ΔI)		
	$\Delta I_1 (I_{CO} - I_{ACO})$	$\Delta I_2 (I_{CO} - I_{NO_2})$	$\Delta I_3 (I_{ACO} - I_{NO_2})$
Solutés neutres			
Octogène	174.2	128.7	302.9
Hexogène	149.3	202.5	351.8
1,3,5-TNB	154.3	205.7	360.0
Tetryl	159.2	206.3	365.5
1,3-DNB	163.6	206.0	369.6
2,4,6-TNT	166.5	205.5	372.0
4-A-2,6-DNT	171.2	204.4	375.6
2-A-4,6-DNT	172.2	204.1	376.3
2,6-DNT	175.7	203.0	378.7
2,4-DNT	179.6	201.7	381.3
2-NT	184.0	200.0	384.0
4-NT	186.8	198.8	385.6
3-NT	188.5	198.1	386.6
DPA	206.0	190.2	396.2
Solutés acides			
4-NP	176.1	183.8	359.9
3-NP	176.8	184.4	361.2
2,4-DNP	178.1	185.1	363.2
4-M-2,6-DNP	180.9	186.5	367.4
3,5-DNP	184.4	187.9	372.3
2-M-4,6-DNP	189.5	189.6	379.1

(CO) : échelle des 2-cétones ; (ACO) : échelle des alkylphénones ;
(NO₂) : échelle des 1-nitroalcanes.

Tableau XIV : Résultats de la corrélation des indices de rétention calculés dans 3 échelles d'indices.

Equation de corrélation	Solutés	B (pente)	A (intercept)	R ² (coefficient de corrélation)
$I(NO_2) = B I(CO) + A$	neutres	-229.280	1.039	1.0
	acides	-167.052	0.969	1.0
$I(ACO) = B I(CO) + A$	neutres	55.107	1.170	0.99985
	acides	136.668	1.070	0.99997
$I(NO_2) = B I(ACO) + A$	neutres	-278.358	0.887	0.99993
	acides	-290.757	0.905	0.99997

(CO) : échelle des 2-cétones ; (ACO) : échelle des alkylphénones ;
(NO₂) : échelle des 1-nitroalcanes.

V.3.2. Influence des conditions chromatographiques de séparation sur la variation des indices de rétention des composés nitrés :

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à l'étude des conditions chromatographiques de séparation sur la variation des indices de rétention et les facteurs de rétention d'une vingtaine de composés organiques nitrés. Les valeurs des facteurs de rétention ont été obtenues en utilisant les valeurs du temps mort t_M déterminées par la méthode multiparamétrique.

Nous présentons dans ce chapitre, seulement les indices de rétention calculés par notre méthode dans l'échelle des 2-cétones. Les indices de rétention calculés par la méthode de Grobler et la méthode de Guardino sont reportés en **Annexe B**.

IV.3.2.A. Influence de la phase mobile :

- ***Composition de la phase mobile :***

La séparation des deux mélanges standards des composés organiques nitrés étudiés dans ce travail (solutés neutres et solutés acides) a été réalisée à différentes compositions de la phase mobile (50-70% méthanol). Les résultats obtenus sur la colonne Nucléosil (100) C₁₈ pour une phase mobile méthanol-eau (solutés neutres) et ceux obtenus sur la colonne UltraSepESEX C₁₈ pour une phase mobile méthanol-tampon phosphate pH 2.64 sont consignées dans le **Tableau XV**.

- La variation des indices de rétention de l'ensemble des solutés n'est pas homogène. Certains d'entre eux sont affectés plus que d'autres par la variation du pourcentage du méthanol dans la phase mobile. En effet, les indices des 3 solutés nitramines (octogène, hexogène et tetryl) diminuent de manière significative lorsqu'en augmente la proportion du méthanol, alors que, les indices des 4 solutés nitroaromatiques (1,3,5-TNB, 2,6-DNT, 2,4-DNT) et la DPA sont pratiquement stables dans l'intervalle 50-70 % en méthanol, où des écarts d'indices n'excédant pas 11.0 u.i. ont été relevés. Cependant, les solutés 1,3-DNB, 2,4,6-TNT, 4-A-2,6-DNT, 2-A-4,6-DNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT ainsi que les solutés acides ont montré des différences légèrement plus importantes (0.3-21.0 u.i.).

- L'écart type calculé pour chaque valeur d'indice n'est pas significatif (0.1-3.3 u.i.).

- Les facteurs de rétention de l'ensemble des solutés diminuent notablement lorsque la proportion du solvant organique (méthanol) dans la phase mobile augmente.

Au vu des différents résultats obtenus, nous pouvons avancer qu'à l'exception des 3 solutés nitramines (octogène, hexogène et tetryl), les indices de l'ensemble des solutés montrent une légère variation (< 20 u.i.) en fonction de la composition de la phase mobile et ceci dans l'intervalle étudié (50 –70% en méthanol).

Tableau XV: Indices de rétention(I) et facteurs de rétention (k') à différentes compositions de la phase mobile.

% Méthanol	50		55		60		65		70	
	k'	I(MP)	k'	I(MP)	k'	I(MP)	k'	I(MP)	k'	I(MP)
Solutés neutres										
Octogène	0.369	355.0 (0.4)	0.259	327.9 (0.5)	0.193	297.1 (0.9)	0.157	273.8 (2.9)	0.122	230.9 (11.3)
Hexogène	1.305	512.0 (0.3)	0.928	503.3 (0.4)	0.701	493.4 (0.4)	0.559	488.7 (2.3)	0.431	468.7 (2.1)
1,3,5-TNB	1.875	557.9 (0.3)	1.379	557.6 (0.4)	1.058	556.0 (0.3)	0.849	559.6 (2.2)	0.657	548.6 (1.3)
Tetryl	2.999	616.5 (0.2)	1.949	605.1 (0.3)	1.345	592.5 (0.3)	0.998	586.9 (2.8)	0.701	559.3 (1.8)
1,3-DNB	3.230	625.8 (0.2)	2.317	628.9 (0.3)	1.751	632.7 (0.3)*	1.389	642.8 (2.3)*	1.050	637.2 (1.3)*
2,4,6-TNT	3.655	641.2 (0.2)	2.516	640.2 (0.3)	1.751	632.7 (0.3)*	1.389	642.8 (2.3)*	1.050	637.2 (1.3)*
4-A-2,6-DNT	4.560	668.8 (0.3)	2.953	662.2 (0.3)	2.044	656.2 (0.4)	1.519	658.0 (2.7)	1.050	637.2 (1.3)*
2-A-4,6-DNT	5.020	680.8 (0.1)	3.310	677.8 (0.2)	2.325	675.8 (0.4)	1.751	682.0 (2.5)	1.252	669.9 (1.3)
2,6-DNT	5.441	690.9 (0.1)	3.604	689.5 (0.2)	2.540	689.3 (0.3)	1.913	697.0 (2.6)	1.372	686.9 (1.2)
2,4-DNT	5.874	700.4 (0.1)	3.946	702.0 (0.1)	2.819	705.1 (0.4)	2.141	710.0 (2.4)	1.549	709.6 (1.2)
2-NT	7.024	722.7 (0.1)	4.601	723.1 (0.1)	3.223	725.5 (0.3)	2.420	736.8 (2.5)	1.746	731.8 (1.2)
4-NT	7.647	733.4 (0.1)	5.008	734.7 (0.1)	3.509	738.4 (0.3)	2.629	750.8 (2.5)	1.896	747.1 (1.2)
3-NT	8.312	743.8 (0.1)	5.441	746.1 (0.1)	3.803	750.7 (0.2)	2.842	764.0 (2.6)	2.045	761.2 (1.1)
DPA	22.499	868.1 (0.1)	12.814	863.7 (0.1)	7.914	862.2 (0.1)	5.299	869.5 (2.6)	3.474	859.7 (1.4)
Solutés acides										
4-NP	1.689	564.2 (1.4)	1.393	548.8 (2.8)	0.851	544.0 (2.3)	0.518	546.9 (3.3)	--	--
3-NP	1.901	579.1 (1.0)	1.570	565.9 (2.1)	0.960	561.4 (2.1)	0.591	565.3 (3.3)	--	--
2,4-DNP	2.320	604.5 (0.9)	1.873	591.1 (1.7)	1.131	585.0 (2.9)	0.695	588.2 (3.2)	--	--
4-M-2,6-DNP	3.285	649.8 (0.8)	2.555	635.5 (1.1)	1.622	637.1 (2.7)	0.960	633.8 (2.8)	--	--
3,5-DNP	4.385	688.1 (0.6)	3.521	681.4 (1.0)	2.195	680.9 (2.7)	1.434	690.3 (2.3)	--	--
2-M-4,6-DNP	6.825	747.6 (0.3)	5.229	737.9 (0.5)	3.280	738.9 (1.0)	2.021	738.6 (2.9)	--	--

(*) Pics coélués.

- ***Débit de la phase mobile :***

Notre étude s'est poursuivie par l'examen de l'influence du débit de la phase mobile sur la variation des indices de rétention des solutés neutres. Pour cela, nous avons effectué une série de mesure aux débits de phase mobile suivants : 1.2, 1.0, 0.8 et 0.6 ml/min. Les résultats obtenus sur la colonne Nucléosil (100) C₁₈ sont consignés dans le **Tableau XVI**.

- Le débit de la phase mobile n'influe pas de manière significative sur les valeurs des indices de rétention ainsi que sur les valeurs des facteurs de rétention.

- Pour l'ensemble des solutés, l'écart type calculé pour chaque valeur d'indice, n'est pas significatif (0.1 – 0.8 u.i.).

- ***pH de la phase mobile:***

L'étude de la variation des indices de rétention des composés organiques nitrés en fonction du pH de la phase mobile a été réalisée. Une série de séparation a été effectuée en changeant à chaque fois le pH du tampon phosphate utilisé (pH 3.0, pH 3.6 et pH 4.1). Les résultats obtenus sur la colonne UltraSepESEX C₁₈ sont rassemblés dans le **Tableau XVII**.

En premier lieu, nous constatons que la variation des indices de rétention des solutés neutres est plus ou moins importante (0.6 - 20.0 u.i.) à l'exception de l'octogène et l'hexogène où des écarts considérables ont été enregistrés, alors que, les solutés acides ont montré une forte dépendance en fonction du pH, où une variation importante a été relevée (2.0 - 128.5 u.i.). En effet, la variation la plus significative a été observée pour les 3 solutés acides suivants : 2,4-DNP (pKa= 3.94 [62]), 4-M-2,6-DNP (pKa= 3.98) et 2-M-4,6-DNP (pKa=4.21) pour des valeurs de pH proches du pKa de ces derniers [62]. Ce résultat était prévisible puisque dans cet intervalle, ces solutés sont partiellement ionisés.

- L'écart type calculé pour chaque valeur d'indice de rétention concernant l'ensemble des composés organiques nitrés étudiés est satisfaisant (0.1-0.9 u.i.).

Tableau XVI: Indices de rétention (I) et facteurs de rétention (k') à différents débits de la phase mobile (composition 55:45 (v/v) en méthanol-eau).

Débit (ml/min)	1.20		1.00		0.80		0.60	
	k'	I(MP)	k'	I(MP)	k'	I(MP)	k'	I(MP)
Solutés neutres								
Octogène	0.254	327.3 (0.8)	0.259	327.9 (0.2)	0.270	329.1 (0.7)	0.269	329.2 (0.3)
Hexogène	0.914	502.8 (0.2)	0.928	503.3 (0.2)	0.934	501.5 (0.3)	0.943	502.9 (0.2)
1,3,5-TNB	1.360	557.3 (0.2)	1.379	557.6 (0.1)	1.384	556.1 (0.4)	1.399	557.5 (0.1)
Tetryl	1.921	604.7 (0.2)	1.949	605.1 (0.1)	1.927	602.1 (0.6)	1.949	603.5 (0.1)
1,3-DNB	2.286	628.5 (0.2)	2.317	628.9 (0.1)	2.311	627.3 (0.4)	2.331	628.3 (0.1)
2,4,6-TNT	2.484	639.9 (0.2)	2.516	640.2 (0.1)	2.501	638.3 (0.6)	2.527	639.5 (0.1)
4-A-2,6-DNT	2.914	661.9 (0.2)	2.953	662.2 (0.1)	2.914	659.6 (0.6)	2.938	660.3 (0.1)
2-A-4,6-DNT	3.271	677.7 (0.2)	3.310	677.8 (0.1)	3.272	675.7 (0.6)	3.295	676.2 (0.1)
2,6-DNT	3.562	689.4 (0.2)	3.604	689.5 (0.1)	3.572	687.9 (0.6)	3.601	688.5 (0.1)
2,4-DNT	3.906	702.0 (0.2)	3.946	702.0 (0.1)	3.920	700.8 (0.6)	3.949	701.3 (0.1)
2-NT	4.553	723.1 (0.2)	4.601	723.1 (0.1)	4.548	721.4 (0.7)	4.580	721.9 (0.1)
4-NT	4.960	734.8 (0.2)	5.008	734.7 (0.1)	4.956	733.4 (0.7)	4.987	733.6 (0.1)
3-NT	5.383	746.0 (0.2)	5.441	746.1 (0.1)	5.380	744.8 (0.7)	5.421	745.2 (0.1)
DPA	12.713	863.9 (0.2)	12.813	863.7 (0.1)	12.432	861.2 (0.1)	12.627	862.4 (0.1)

Tableau XVII: Indices de rétention (I) et facteurs de rétention (k') à différentes valeurs de pH. (composition 50:50 (v/v) en méthanol-tampon phosphate).

pH de l'éluant	2.64		3.00		3.60		4.10	
	k'	I(MP)	k'	I(MP)	k'	I(MP)	k'	I(MP)
Solutés neutres								
Octogène	0.192	204.5 (9.9)	0.209	331.5 (3.4)	0.170	306.0 (9.8)	0.185	307.8 (2.3)
Hexogène	1.225	551.8 (1.5)	1.324	541.9 (1.1)	1.203	535.9 (1.3)	1.029	526.3 (0.6)
1,3,5-TNB	1.795	595.2 (1.4)	1.902	585.5 (0.4)	1.780	582.1 (1.0)	1.600	575.2 (0.5)
Tetryl	2.836	645.2 (1.6)	3.035	642.2 (0.5)	2.788	634.9 (1.1)	2.444	625.3 (0.4)
1,3-DNB	3.303	661.5 (1.5)	3.437	657.3 (0.4)	3.298	654.6 (0.8)	2.916	645.9 (0.5)
2,4,6-TNT	3,589	670.3 (1.5)	3.750	667.9 (0.3)	3.572	664.0 (1.1)	3.193	656.7 (0.5)
4-A-2,6-DNT	4.380	691.4 (1.6)	4.635	693.8 (0.8)	4.210	683.3 (0.6)	3.791	679.2 (0.6)
2-A-4,6-DNT	5.052	706.4 (1.9)	5.300	710.2 (0.9)	4.970	702.8 (0.6)	4.359	695.4 (0.6)
2,6-DNT	5.410	713.6 (1.6)	5.650	718.0 (0.4)	5.351	711.5 (0.7)	4.810	706.0 (0.7)
2,4-DNT	6.106	726.2 (1.6)	6.364	732.6 (0.5)	6.119	727.3 (0.8)	5.517	721.7 (0.8)
2-NT	6.918	739.2 (1.7)	7.209	747.8 (0.5)	6.942	742.2 (0.9)	6.370	737.7 (0.9)
4-NT	7.694	750.2 (1.8)	8.033	761.1 (0.7)	7.766	755.3 (1.0)	7.088	750.8 (1.0)
3-NT	8.314	758.3 (1.9)	8.648	770.2 (0.7)	8.316	763.4 (1.0)	7.699	760.5 (1.0)
Solutés acides								
4-NP	1.630	584.4 (1.2)	1.806	579.2 (0.7)	1.657	573.7 (0.6)	1.343	550.7 (0.5)
3-NP	1.851	598.6 (1.1)	2.044	594.2 (0.7)	1.879	588.4 (0.6)	1.558	568.2 (0.6)
2,4-DNP	2.276	621.3 (1.0)	2.400	613.7 (0.9)	1.657	573.7 (0.6)	0.824	492.8 (2.1)
4-M-2,6-DNP	3.247	659.7 (1.1)	3.446	657.6 (1.0)	2.773	634.2 (0.6)	1.791	584.7 (0.7)
3,5-DNP	4.413	692.2 (1.3)	4.767	697.2 (0.7)	4.353	687.2 (0.6)	3.637	668.6 (0.8)
2-M-4,6-DNP	6.889	738.8 (1.7)	7.295	749.3 (0.5)	5.794	720.9 (0.8)	3.966	678.8 (0.9)

IV.3.2.B. Effet de la température de la colonne :

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'influence de la température de la colonne sur la variation des indices de rétention. Pour cela, nous avons fait varier la température de la colonne de 30°C à 60°C à raison de 5°C d'intervalle. Notons que, les phases stationnaires à base de silice, sont généralement stables thermiquement jusqu'à une température de 80°C. Les résultats obtenus sur la colonne Sphérisorb-ODS2 C₁₈ sont rassemblés dans le **Tableau XVIII**.

- Pour l'ensemble des solutés, une augmentation de la température provoque une diminution des facteurs de rétention ainsi que celles des indices de rétention. Toutefois, il est important de signaler, que l'influence de la température sur la variation des facteurs de rétention est beaucoup plus marquée que celle observée pour les valeurs des indices de rétention. En effet, nous avons constaté qu'en moyenne, une augmentation de la température de 30°C divise par deux les valeurs des facteurs de rétention, alors que, d'une manière générale, pour une variation de température faible ($\pm 5^\circ\text{C}$), la variation des indices de rétention des solutés neutres n'est pas très importante (< 12.0 unités d'indices). A titre d'exemple, pour le soluté 3-NT, les variations des indices de rétention sont respectivement 5.4, 3.4, 2.9, 6.2 entre 30 et 35°C, 35°C et 40°C, 40°C et 45°C, 45°C et 60°C.

- La variation des indices de rétention des solutés acides en fonction de la température est beaucoup plus importante que celle relevée pour les solutés neutres. Ce résultat peut être expliqué par le fait qu'il y a un changement dans le degré d'ionisation causé par la température.

- Les écarts types sur les indices calculés pour différentes températures de la colonne sont satisfaisants. Ces derniers diminuent de haut en bas pour une série de solutés donnée.

Sur la base des résultats obtenus, il est alors possible d'avancer, qu'une légère variation de la température de la colonne ne peut pas interférer d'une manière considérable sur les processus d'identifications des solutés neutres par CLHP. Toutefois, le contrôle de ce facteur reste souhaitable puisque les performances de nombreuses colonnes peuvent être affectées par des changements de 2°C à 5°C par rapport à la température ambiante.

Tableau XVIII: Effet de la température de la colonne sur la variation des indices (I) et des facteurs de rétention (k').
(composition de la phase mobile 51 : 49 (v/v) en méthanol-tampon phosphate pH 3.80).

T (°C)	30		35		40		45		50		55		60	
Paramètre de rétention	k'	I(MP)	k'	I(MP)	k'	I(MP)	k'	I(MP)	k'	I(MP)	k'	I(MP)	k'	I(MP)
Solutés neutres														
Octogène	0.255	340.2 (4.2)	0.240	326.0 (2.9)	0.195	287.2 (2.7)	0.163	273.9 (3.8)	0.157	269.1 (3.4)	0.138	258.0 (2.5)	0.107	228.0 (4.9)
Hexogène	0.920	508.8 (1.2)	0.870	498.1 (1.0)	0.776	479.9 (0.3)	0.698	475.1 (0.6)	0.660	470.2 (0.7)	0.605	465.4 (0.3)	0.542	456.1 (0.8)
1,3,5-TNB	1.420	565.9 (1.0)	1.364	558.5 (1.0)	1.254	546.8 (0.2)	1.161	545.5 (0.3)	1.116	543.8 (0.3)	1.046	542.7 (0.1)	0.971	538.3 (0.5)
Tetryl	1.984	609.8 (0.9)	1.878	601.4 (0.9)	1.706	589.7 (0.2)	1.562	586.6 (0.4)	1.477	583.0 (0.4)	1.369	580.5 (0.1)	1.251	573.9 (0.7)
1,3-DNB	2.300	629.2 (0.8)	2.190	621.9 (0.9)	2.009	612.5 (0.2)	1.847	609.7 (0.3)	1.753	606.9 (0.2)	1.632	605.3 (0.1)	1.510	600.5 (0.3)
2,4,6-TNT	2.645	647.6 (0.8)	2.531	641.3 (0.8)	2.342	633.8 (0.2)	2.195	633.7 (0.3)*	2.073	630.4 (0.2)*	1.937	629.5 (0.1)*	1.722	619.0 (0.4)*
4-A-2,6-DNT	2.886	659.1 (0.7)	2.708	650.3 (0.8)	2.436	639.4 (0.2)	2.195	633.7 (0.3)*	2.073	630.4 (0.2)*	1.937	629.5 (0.1)*	1.722	619.0 (0.4)*
2-A-4,6-DNT	3.184	671.9 (0.7)	2.979	663.1 (0.7)	2.687	653.0 (0.2)	2.425	647.4 (0.2)	2.251	642.0 (0.2)	2.057	638.0 (0.1)	1.865	630.3 (0.4)
2,6-DNT	3.634	689.3 (0.6)	3.451	682.8 (0.6)	3.165	675.8 (0.2)	2.917	673.0 (0.2)	2.760	670.5 (0.2)	2.567	669.2 (0.1)	2.376	664.5 (0.3)
2,4-DNT	4.056	703.8 (0.5)	3.835	697.0 (0.6)	3.513	690.4 (0.2)	3.223	686.8 (0.2)	3.036	683.8 (0.2)	2.817	682.3 (0.1)	2.600	677.2 (0.2)
2-NT	4.915	729.0 (0.4)	4.674	723.5 (0.4)	4.321	719.3 (0.2)	3.998	716.7 (0.2)	3.795	715.1 (0.1)	3.545	714.7 (0.1)	3.301	710.9 (0.2)
4-NT	5.444	742.4 (0.4)	5.164	736.8 (0.4)	4.762	732.8 (0.2)	4.380	729.3 (0.2)	4.156	727.8 (0.1)	3.874	727.2 (0.1)	3.600	723.1 (0.1)
3-NT	5.849	751.9 (0.3)	5.553	746.5 (0.3)	5.129	743.1 (0.2)	4.740	740.2 (0.2)	4.486	738.5 (0.1)	4.184	738.0 (0.1)	3.891	734.0 (0.1)
Solutés acides														
2,4-DNP	--	--	0.290	351.3 (5.9)	0.255	324.9 (1.8)	0.167	276.9 (12.4)	0.138	251.7 (11.4)	0.091	207.5 (18.6)	0.063	152.5 (26.6)
4-M-2,6-DNP	--	--	0.915	505.1 (1.2)	0.822	488.0 (0.3)	0.627	460.2 (9.7)	0.553	445.4 (2.1)	0.501	438.9 (1.3)	0.448	429.1 (1.6)
4-NP	--	--	1.184	539.6 (1.0)	1.082	526.2 (0.2)	0.993	523.8 (1.7)	0.913	515.6 (0.2)	0.833	510.6 (0.2)	0.766	504.8 (0.1)
3-NP	--	--	1.347	556.8 (1.0)	1.238	545.0 (0.2)	1.116	539.9 (0.3)	1.056	536.0 (0.4)	0.968	531.7 (0.4)*	0.891	526.1 (0.6)*
2-M-4,6-DNP	--	--	1.719	589.4 (1.0)	1.532	574.7 (0.2)	1.300	561.1 (1.2)	1.188	552.5 (0.2)	0.968	531.7 (0.4)*	0.891	526.1 (0.6)*
3,5-DNP	--	--	2.763	653.1 (0.7)	2.526	644.4 (0.2)	2.263	637.8 (0.3)	2.103	632.5 (0.1)	1.918	628.1 (0.1)	1.753	621.6 (0.1)

(*) Pics coélués.

IV.3.2.C. Influence de la nature du matériau de remplissage de la colonne :

En CLHP, les propriétés des phases stationnaires dépendent de leurs processus de fabrication. Le problème de la reproductibilité des données de rétention sur différentes colonnes est le problème principal qui influence directement la qualité de la comparaison des données inter-laboratoires. Pour cela, il est impératif de sélectionner des matériaux de remplissage dont les caractéristiques chromatographiques soient bien déterminées et constantes dans le temps [86, 104].

Nous avons étudié dans cette partie, l'influence de la nature du matériau de remplissage de la colonne sur la variation des indices de rétention des composés organiques nitrés. Nous avons calculé les indices de rétention des solutés neutres sur six colonnes nominale-ment équivalentes mais remplies avec différents matériaux octadécyl-silice C₁₈ (provenant de différents fabricants) et une colonne octyl-silice C₈. Afin d'avoir une bonne reproductibilité des résultats sur les colonnes étudiés, les mesures ont été effectuées sous des conditions chromatographiques de séparation identiques. Les résultats obtenus pour les solutés neutres sont consignés dans le **Tableau XIX**.

Notons que les six colonnes C₁₈ ont des dimensions géométriques identiques (longueur : 250 mm ; diamètre interne : 4 mm ; dimension des particules : 5 µm et dimension des pores : 100 Å), à l'exception de la Nucléosil (100) et la Nucléosil (120) où seulement la dimension des pores des particules de la phase stationnaire est différente (**Tableau III**).

- La comparaison des indices de rétention de l'ensemble des solutés obtenus sur les deux colonnes Nucléosil (100) C₁₈ et Nucléosil (120) C₁₈ provenant d'un même fabricant (Macherey-Nagel) a montré une différence inférieure à 11.0 unités d'indices. De même, une faible variation des valeurs des facteurs de rétention a été observée.

- Une bonne reproductibilité des indices de rétention a été relevée pour les solutés les plus retenus dans le mélange des solutés neutres : 2,6-DNT, 2,4-DNT, 2-NT, 4-NT, 3-NT et DPA. En effet, une différence inférieure à 10.0 unités d'indices a été relevée pour ces solutés sur les colonnes UltraSepESEX, Spherisorb-ODS2 et Eurospher. En revanche, une variation considérable des valeurs des facteurs de rétention a été constatée.

- Les colonnes Nucléosil C₁₈ et Nucléosil C₈ (densité élevée) ont montré une sélectivité différente comparativement aux autres colonnes étudiées. En effet, une inversion de l'ordre d'élution des deux solutés tetryl et 1,3-DNB a été constaté.

- L'écart type calculé pour chaque valeur d'indice sur les sept colonnes est faible (0.1-3.5).

Tableau XIX : Influence des matériaux de remplissage de la colonne sur la variation des valeurs des facteurs de rétention (k') et des indices de rétention (I). (composition de la phase mobile 55:45 (v/v) en méthanol-eau).

Phase stationnaire	Octadécyl-C ₁₈										Octyl-C ₈			
	Nucleosil (120)		Nucleosil (100)		Nucleosil (densité élevée)		UltraSep ES EX		Spherisorb-ODS2		Eurospheer		Nucleosil (densité élevée)	
Matériaux	Macherey-Nagel		Macherey-Nagel		Macherey-Nagel		SepServ		Hewlett Packard		Knauer		Macherey-Nagel	
Fabricant	Macherey-Nagel		Macherey-Nagel		Macherey-Nagel		SepServ		Hewlett Packard		Knauer		Macherey-Nagel	
Paramètre de rétention	k'	I (MP)	k'	I (MP)	k'	I (MP)	k'	I (MP)	k'	I (MP)	k'	I (MP)	k'	I (MP)
Solutés neutres														
Octogène	0.302	360.5 (3.3)	0.285	352.2 (0.6)	0.523	383.3 (7.1)	0.256	293.4 (3.2)	0.256	329.6 (12.3)	0.445	375.5 (0.4)	0.253	354.4 (1.1)
Hexogène	1.085	527.3 (1.9)	1.017	522.2 (0.3)	1.279	494.5 (2.7)	1.249	503.3 (1.9)	0.962	496.7 (3.9)	1.519	521.1 (0.1)	0.935	514.3 (0.3)
1,3,5-TNB	1.656	582.5 (2.0)	1.484	572.8 (0.1)	1.977	548.5 (2.0)	1.815	552.8 (1.6)	1.350	539.6 (3.5)	2.374	574.0 (0.2)	1.252	552.6 (0.2)
Tetryl	2.437	632.8 (1.8)	2.125	620.8 (0.1)	2.892	595.6 (1.6)	2.542	597.4 (1.9)	2.002	589.4 (3.4)	3.257	611.8 (0.1)	2.107	622.3 (0.2)
1,3-DNB	2.788	650.3 (1.8)	2.538	644.6 (0.2)	2.573	581.2 (1.6)	3.171	626.7 (1.5)	2.440	614.4 (3.2)	4.039	637.4 (0.1)	1.748	597.1 (0.2)
2,4,6-TNT	3.123	665.1 (1.7)	2.731	654.3 (0.1)	3.594	622.6 (1.4)	3.313	632.5 (1.6)	2.586	621.8 (3.3)	4.764	657.0 (0.1)	2.286	639.1 (0.1)
4-A-2,6-DNT	3.478	679.2 (1.6)	3.261	678.1 (0.3)	3.815	630.0 (0.1)	3.825	651.6 (1.8)	3.013	641.1 (3.4)	5.560	675.4 (0.1)	3.035	671.9 (0.1)*
2-A-4,6-DNT	3.855	692.6 (1.6)	3.664	693.7 (0.3)	3.950	634.3 (1.3)	4.417	670.6 (1.7)	3.429	657.4 (3.4)	5.601	676.2 (0.1)	3.035	671.9 (0.1)*
2,6-DNT	4.500	712.7 (1.5)	3.974	704.6 (0.3)	4.184	641.4 (1.1)	4.785	681.2 (1.5)	3.885	673.2 (3.3)	5.859	681.6 (0.1)	3.109	675.2 (0.1)*
2,4-DNT	4.924	724.5 (1.4)	4.370	717.2 (0.3)	4.395	647.5 (0.8)	5.458	698.7 (1.4)	4.474	691.1 (3.3)	5.889	692.2 (0.1)	3.109	675.2 (0.1)*
2-NT	5.896	747.9 (1.4)	5.079	737.4 (0.1)	5.279	670.3 (1.3)	6.071	712.8 (1.4)	5.303	712.6 (3.5)	7.375	709.0 (0.1)	3.572	694.3 (0.1)
4-NT	6.305	756.7 (1.4)	5.554	749.3 (0.1)	5.703	679.8 (1.4)	6.746	726.8 (1.3)	5.920	726.5 (3.5)	8.086	719.9 (0.1)	3.703	699.2 (0.1)
3-NT	6.960	769.6 (1.4)	6.020	760.1 (0.1)	6.196	690.1 (1.3)	7.256	736.4 (1.3)	6.358	735.5 (3.5)	8.726	729.0 (0.1)	4.071	712.3 (0.1)
DPA	17.013	886.1 (2.0)	14.463	877.4 (0.1)	17.214	816.8 (0.9)	18.082	857.4 (1.0)	15.291	856.5 (3.5)	27.679	866.3 (0.1)	11.478	855.9 (0.1)

(*) Pics coélus.

Les différentes variations entre des colonnes nominalement équivalentes mais remplies avec différents matériaux C₁₈ (provenant de différents fabricants) peuvent être attribuées aux raisons suivantes :

- La différence qualitative et quantitative des groupements superficiels de la silice (groupements silanols résiduels) ainsi que leur accessibilité.
- La nature du ligand et la manière dont il est attaché à la surface du substrat.
- Les différents paramètres géométriques de la colonne.

Afin d'améliorer la reproductibilité des indices de rétention, les différentes caractéristiques des colonnes chromatographiques utilisées doivent être décrites clairement dans la description de la méthode de séparation données en littérature.

IV.4. Conclusion :

L'application de la méthode multiparamétrique en CLHP pour le calcul des indices de rétention d'une vingtaine de composés organiques nitrés a donné des résultats satisfaisants. Les critères statistiques donnés par la multiparamétrie sont généralement faibles. La comparaison des indices de rétention calculés par la méthode multiparamétrique avec ceux calculés par les méthodes de Guardino, de Grobler et de Kovàts sont en très bon accord. Néanmoins, certaines difficultés ont été relevées pour le calcul des indices de rétention de certains solutés par la méthode de Kovàts.

Une bonne corrélation a été obtenue pour les indices de rétention de l'ensemble des solutés étudiés dans les trois échelles d'indices : 2-cétones, alkylphénones et 1-nitroalcanes.

Les facteurs, tels que la différence entre des colonnes C₁₈ nominalement équivalente remplies avec divers matériaux, la variation de la température de la colonne, la composition de la phase mobile ou de son pH, peuvent contribuer à la variation des indices de rétention de des composés organiques nitrés étudiés. Cependant, cette variation est beaucoup plus marquée pour les solutés acides (nitrophénols) comparativement aux solutés neutres (nitramines, nitroaromatiques et aminonitroaromatiques).

V.1. Introduction :

Durant cette décennie, un effort accru a été apporté en vue d'une meilleure connaissance et d'un meilleur contrôle des niveaux de pollution de l'environnement. De plus en plus, l'opinion publique prend conscience du fait que la pollution menace les fondements même de notre vie. Il n'y a alors rien d'étonnant de voir que la protection de l'environnement prend une place importante dans les objectifs des gouvernements. Tous les pays industrialisés ont été amenés plus ou moins soudainement à constater, les désagréments ou le danger des excès de pollution de l'environnement. Aussi ont-ils réagi avec des degrés variables de rigueur en fonction de leur politique et de leurs moyens.

Les composés organiques aromatiques ou non aromatiques comportant un ou plusieurs groupements nitro forment une classe importante au sein des polluants qui menacent l'environnement au niveau des sites intensivement utilisés pour des raisons militaires. Nous citons à titre d'exemple, les composés explosifs : le 2,4,6-trinitrotoluène (TNT) ainsi que ses sous produits et métabolites (nitrotoluènes, aminodinitrotoluènes et nitrobenzènes) et l'hexahydro-1,3,5-triazine (hexogène ou RDX) ainsi que son sous produit l'octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine (octogène ou HMX).

Ces dernières années, le développement de diverses méthodes d'analyses chromatographiques concernant les composés explosifs ont particulièrement retenu l'attention de nombreux chercheurs [114-134]. Les principales applications caractéristiques concernent :

- L'analyse des sols et des eaux dans les sites intensivement utilisés pour des raisons militaires.
- Le contrôle de qualité des rejets liquides provenant des usines de production des explosifs.
- En toxicologie et dans les expertises médico-légales (investigation au niveau des sites où se sont produites des explosions ou des actions criminelles).

La mise au point de techniques d'analyses concernant les composés organiques nitrés, d'un point de vue qualitatif et quantitatif s'avère donc plus que nécessaire. L'analyse de ces substances par les techniques chromatographiques a beaucoup évolué ces dernières années [122,127]. La CPG sur colonne capillaire, offre des avantages appréciables d'un point de vue efficacité de séparation et limite de détection. Le détecteur à capture d'électrons est très approprié dans l'analyse de ce type de composés [123-127]. Néanmoins, à cause de l'instabilité thermique, la non-volatilité ainsi que la polarité élevée de certains composés explosifs comme l'octogène et l'hexogène, la CLHP s'avère une méthode de choix pour l'analyse de ces

derniers. La CLHP couplée avec d'autres outils analytiques, comme le détecteur UV/Visible, le détecteur électrochimique ou la spectrométrie de masse a donné de très bons résultats dans l'identification et la quantification d'un grand nombre de composés organiques nitrés [114-122].

Aux Etats Unis ainsi qu'en Europe, les sols et les eaux de surfaces ou souterraines autour de plusieurs installations militaires sont contaminés par les composés explosifs nitramines et nitroaromatiques [114-117]. Durant la deuxième guerre mondiale, parmi les pays européens, l'Allemagne était considérée comme étant le pays le plus producteur des munitions de guerre et précisément la fabrication d'explosifs. A titre d'exemple, l'usine d'Elsnig (Saxon, Allemagne) produisait plus de 32000 tonnes d'explosifs par mois. Après 1945, l'usine a été détruite complètement et le site est devenu par la suite un endroit pour l'incinération à ciel ouvert de tous les déchets issus des installations militaires de la région et ceci sous des conditions non contrôlées. De ce fait, les conséquences sur l'environnement autour de cette région sont dramatiques. A ce jour, les sols et les eaux souterraines sont sévèrement contaminés par les résidus des composés explosifs ainsi que leurs sous-produits et métabolites. Tous ces produits sont toxiques à la santé humaine et à l'environnement. Ils sont capables de porter atteinte à la population exposée à cette pollution surtout que le site où se trouvait l'usine d'Elsnig est à proximité d'une nappe d'eau potable [124,125,128-131].

Au début des années 90, des efforts considérables ont été consacrés par plusieurs groupes de recherche, à l'analyse des sols et des eaux autour des sites où se trouvaient des usines d'armements. Dans ce domaine, des investigations ont été entreprises par l'équipe de W.Engewald dans la zone d'Elsnig pour aboutir à une meilleure connaissance des conséquences des résidus des composés explosifs sur l'environnement et surtout sur la qualité des eaux potables de la ville d'Elsnig et celles limitrophes.

En collaboration avec l'équipe de W.Engewald, nous avons réalisé une étude systématique de la rétention des composés organiques nitrés «explosifs ainsi que leurs sous produits et métabolites». Une application pratique a été faite sur des échantillons d'eaux contaminées qui ont été collectés dans le site où se trouvait l'usine de fabrication des explosifs d'Elsnig.

Ce chapitre est divisé en deux parties :

- Dans la première partie, nous étudierons le comportement de rétention en CLHP de vingt composés organiques nitrés (nitramines, nitroaromatiques, nitroaminoaromatiques et nitrophénols). Nous examinerons aussi l'influence de trois facteurs chromatographiques susceptibles d'affecter la séparation de ces composés, tels que :

- La composition de la phase mobile.
- Le pH de la phase mobile.

- La nature du matériau de remplissage de la colonne ainsi que celle de la phase stationnaire.

L'étude de l'influence de la composition de la phase mobile ainsi que de son pH sur la séparation sera réalisée en utilisant un programme de simulation par ordinateur DryLab [135].

- La deuxième partie sera consacrée à l'analyse qualitative d'un échantillon d'eau collecté dans la région d'Elsnig. Les analyses ont été effectuées par CLHP en utilisant deux détecteurs en série :

- Détecteur UV/Visible.
- Détecteur électrochimique en mode d'oxydation.

➤ **Première Partie :**

V.2. Analyse par CLHP des composés organiques nitrés :

Les colonnes octadécyl-silice C₁₈ sont généralement les plus utilisées dans l'analyse des composés organiques nitrés. Les phases mobiles utilisées sont généralement des mélanges binaires méthanol-eau ou acétonitrile-eau (tamponnées ou non tamponnées) en isocratique ou en gradient d'élution. L'utilisation du méthanol est favorisée par rapport à celle de l'acétonitrile. Les solvants comme l'éthanol, le n-propanol et le dioxane ainsi que les mélanges ternaires méthanol-acétonitrile-eau ou méthanol-tetrahydrofurane-eau, sont peu utilisés comparativement aux phases mobiles binaires.

Cependant, dans la pratique, la séparation d'une série de composés organiques nitrés par CLHP sur une colonne en une seule manipulation chromatographique s'avère difficile. Avant de procéder à la séparation d'un mélange complexe, une préséparation des différents constituants en plusieurs fractions s'avère nécessaire afin d'éviter certaines interférences et faciliter le processus d'identification dans l'analyse des échantillons réels.

Les 20 composés organiques nitrés étudiés dans ce travail ont été répartis en deux mélanges :

- Mélange des solutés neutres : nitramines, nitroaromatiques et aminonitroaromatiques.
- Mélange des solutés acides : nitrophénols.

En CLHP, la mise au point d'une méthode de séparation exige un investissement important en temps et un effort considérable à cause de la variété des phases stationnaires et les diverses combinaisons possibles de la phase mobile. Afin d'aider les chromatographistes dans cette tâche, plusieurs méthodes mathématiques de simulation des données de rétention pour l'optimisation d'une méthode chromatographique ont été développées, telles que le programme

DryLab [136-137]. Ce dernier peut apporter une aide appréciable dans l'optimisation des conditions de séparation de plusieurs matrices complexes en CLHP et également en CPG [138]. Dans ce travail, nous avons utilisé le DryLab pour étudier la rétention des composés organiques nitrés.

V.2.1 Mise au point d'une méthode de séparation à l'aide du DryLab :

➤ Méthodologie :

La méthode consiste à introduire dans le programme les données de rétention expérimentales de 2 ou 3 manipulations préliminaires de référence en faisant varier un paramètre expérimental, tel que, la composition, le pH de la phase mobile ou la température de la colonne. Pour un mélange déterminé, les données suivantes : les caractéristiques géométriques de la colonne, les conditions d'élution, le nombre de solutés, les temps de rétention et les surfaces des pics doivent être également introduits dans le programme. A partir de ces données, la séparation du mélange peut être optimisée à l'aide de nouvelles simulations sous d'autres conditions chromatographiques de séparation sans faire de nouvelles expérimentations. De plus, le programme peut générer en un temps très court un grand nombre de données de rétention [139-150].

➤ Interprétation des résultats:

En chromatographie, la qualité d'une séparation est mesurée en premier lieu par la résolution. En pratique, le problème le plus important est la recherche d'une résolution assurant une séparation suffisante des solutés d'un mélange donné. La résolution $R_{A/B}$ entre deux pics adjacents est définie par la **relation V1** :

$$R_{A/B} = \frac{2(t_{RB} - t_{RA})}{\omega_{hA} + \omega_{hB}} \quad (\text{V1})$$

Avec t_{RA} et t_{RB} : temps de rétention des deux pics et ω_{hA} et ω_{hB} : largeurs à mi-hauteur des deux pics.

Il découle de cette définition que la séparation entre deux pics est d'autant meilleure que $R_{A/B}$ est plus grand. Ainsi, pour deux composés conduisant à des pics de surface voisine, ils sont considérés comme étant totalement résolus lorsque $R_{A/B} \geq 1.5$, c'est à dire que la séparation est de 99.7%. Généralement, si $R_{A/B} = 1$ ceci correspond à 98% de séparation.

Le traitement par le DryLab des données de rétention expérimentales de quelques manipulations préliminaires de référence, nous permet d'obtenir un diagramme représentant la résolution (R_s) des paires de pics critiques (les couples les moins résolus) en fonction de la variable qu'on veut optimiser. Si la résolution est acceptable pour une paire de pics critique donnée, elle devrait être satisfaisante pour tous les pics du chromatogramme. Pour un mélange donné, l'exploitation du diagramme nous permet de tirer en quelques secondes les meilleures conditions de séparation d'un mélange donné.

➤ **Software :**

Toutes les simulations ont été effectuées sur un micro ordinateur PIII en utilisant le programme DryLab version 1.94 (LC Resources, CA, USA). Les diagrammes ainsi que les chromatogrammes simulés sont donnés par le DryLab.

V.2.2. Résultats et discussion :

V.2.2.A. Effet de la composition de la phase mobile et du pH sur la séparation :

A) La résolution en fonction de la composition de la phase mobile :

La **Figure 28** donne le diagramme représentant la résolution (R_s) en fonction du pourcentage en méthanol des solutés neutres élués sur la colonne Spherisorb-ODS2 C₁₈. L'examen de ce diagramme nous montre immédiatement le domaine où la séparation de l'ensemble des solutés est possible. En effet, nous distinguons sur le diagramme deux maxima:

- Le premier se situe dans le domaine 38 à 44 % en méthanol:

Une résolution minimale $R_s = 1.44$ a été relevée à 43% en méthanol par rapport à la paire de pics critique 2,6-DNT / 2,4-DNT.

- Le deuxième se situe dans le domaine 49 à 55 % en méthanol:

Une résolution minimale $R_s = 1.75$ a été obtenue à 51% en méthanol par rapport à la paire de pics critique 1,3-DNB / tetryl.

Nous pouvons aussi observer sur le diagramme deux coélutions : l'une concerne les deux solutés 2,4,6-TNT / 1,3-DNB à 60% en méthanol et l'autre entre les solutés tetryl / 1,3-DNB à une composition 46% en méthanol.

Sur cette base de résultat, la composition optimale de la phase mobile pour la séparation des solutés neutres est de 51% en méthanol dans le cas de la colonne Spherisorb-ODS2 C₁₈.

B) La résolution en fonction du pH de la phase mobile :

Le diagramme représentant la résolution (R_s) en fonction du pH de la phase mobile pour les solutés acides élués sur la colonne UltraSepESEX C₁₈ est illustré sur la **Figure 29**.

Nous remarquons qu'il existe deux domaines de pH où une résolution minimale $R_s = 2.4$ peut être obtenue :

Le premier domaine de pH 2 à pH 3 et le deuxième domaine de pH 3.83 à pH 4.10 (par rapport à la paire de pics critique 4-NP / 3-NP).

Nous pouvons aussi immédiatement localiser les valeurs de pH pour lesquelles certaines coélutions sont possibles (coélution des solutés 2,4-DNP / 3-NP à pH 3.34 et 2,4-DNP / 4-NP à pH 3.61). Ceci correspond à des inversions d'ordre d'éluion de ces solutés qui s'observent pour des valeurs de pH proches du pK_a de ces derniers. En effet, les solutés 2,4-DNP ($pK_a = 3.94$), 4-M-2,6-DNP ($pK_a = 3.98$) et 2-M-4,6-DNP ($pK_a = 4.21$) ont montré une variation rapide des caractéristiques de rétention en fonction du pH de la phase mobile (**Tableau XX**). Ceci est certainement dû au fait que dans le domaine de pH étudié (pH 2.64 à pH 4.10), ces trois solutés sont partiellement ionisés.

Tableau XX: Ordre d'éluion et facteurs de séparation des solutés acides (nitrophénols) sur la colonne UltraSepESEX C₁₈ à différentes valeurs du pH de la phase mobile (composition 50 : 50 (v/v) en méthanol-tampon phosphate).

pH de l'éluant	2.64		3.00		3.60		4.10	
	ordre	k'	ordre	k'	ordre	k'	ordre	k'
Solutés acides								
4-NP	1	1.630	1	1.806	1*	1.657	2	1.343
3-NP	2	1.851	2	2.044	2	1.879	3	1.558
2,4-DNP	3	2.276	3	2.400	1*	1.657	1	0.824
4-M-2,6-DNP	4	3.247	4	3.446	3	2.773	4	1.791
3,5-DNP	5	4.413	5	4.767	4	4.353	5	3.637
2-M-4,6-DNP	6	6.889	6	7.295	5	5.794	6	3.966

(*) : pics coélus.

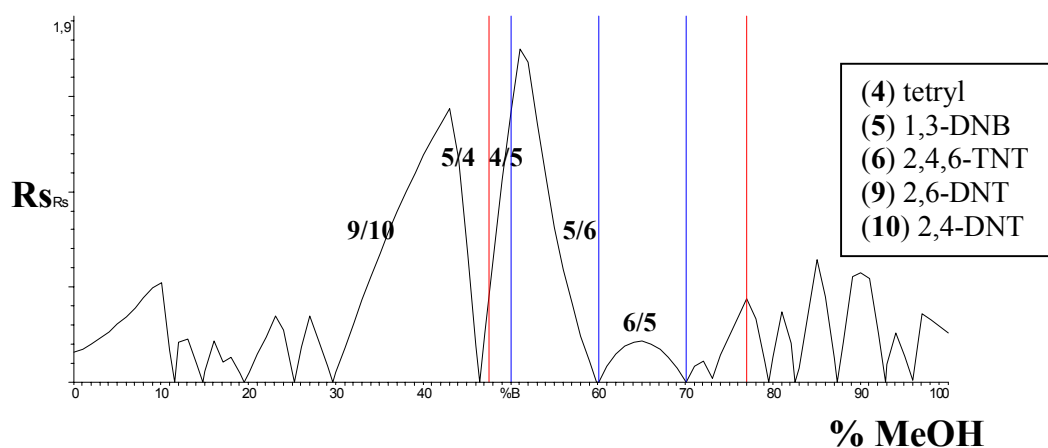


Figure 28: Variation de La résolution (R_s) en fonction de la composition de la phase mobile sur la Spherisorb-ODS2 C₁₈. Les nombres sur le diagramme indiquent les paires de pics les moins résolus.

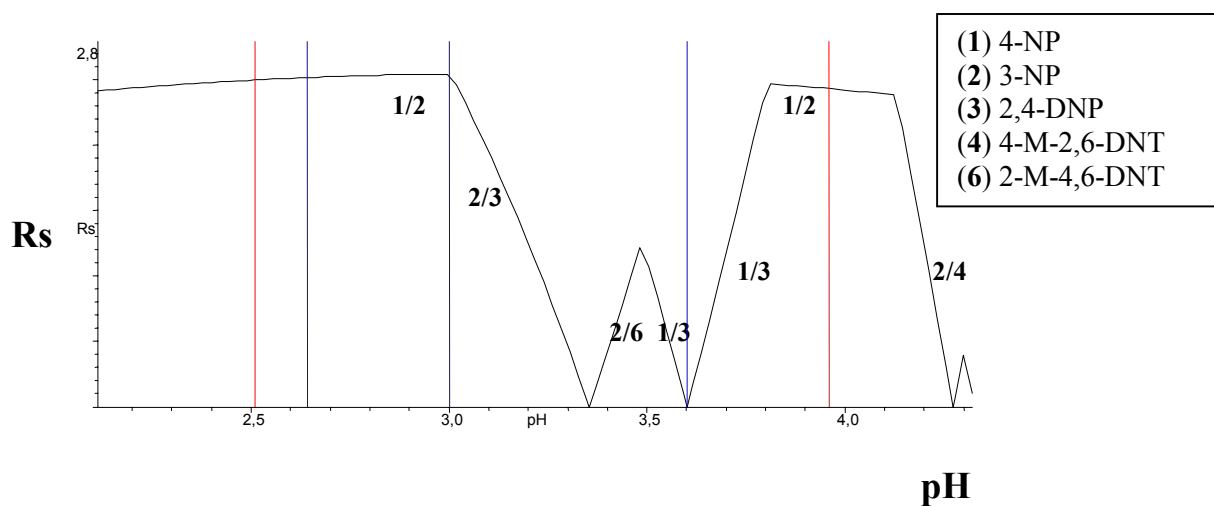


Figure 29 : Variation de la résolution (R_s) en fonction du pH de la phase mobile sur la colonne UltrasepESEX C₁₈. Les nombres sur le diagramme indiquent les paires de pics les moins résolus.

V.2.2.B Corrélation entre les résultats expérimentaux et ceux simulés par le logiciel DryLab :

Sous des conditions de séparation sélectionnées par l'utilisateur, le DryLab permet de générer, en un temps court, un grand nombre de données en se basant sur les valeurs de quelques données expérimentales de référence.

Afin de vérifier la validité des résultats simulés par le DryLab, nous les avons comparés avec ceux obtenus expérimentalement. Pour cela, nous avons simulé avec le logiciel plusieurs chromatogrammes et prédit les temps de rétention des solutés neutres (nitramines, nitroaromatiques, aminonitroaromatique) et ceux des solutés acides (nitrophénols) sous différentes conditions de séparation. Les exemples suivants illustrent les résultats obtenus :

A) Simulation des chromatogrammes :

Nous avons élué le mélange standard des solutés neutres avec deux compositions différentes de phase mobile (50 % et 70% en méthanol) sur la colonne Spherisorb-ODS2 C₁₈. De même, nous avons élué le mélange standard des solutés acides sur la colonne UltraSepESEX C₁₈ en utilisant une phase mobile tamponnée méthanol-tampon phosphate à différents pH (2.64, 3.60 et 4.10). Par la suite, nous avons introduit dans le DryLab les temps de rétention ainsi que les surfaces des pics des solutés pour modéliser les séparations. Parmi tous les chromatogrammes simulés, nous donnons deux exemples :

* Un chromatogramme des solutés neutres simulé pour une composition de phase mobile intermédiaire 55 :45 (v/v) en méthanol-eau sur la colonne Spherisorb-ODS2 C₁₈ (simulation basée sur deux séries de données préliminaires de référence obtenues à deux compositions de phase mobile 50 et 70% en méthanol).

Un chromatogramme des solutés acides simulé pour une phase mobile méthanol-tampon phosphate à un pH 3 intermédiaire sur la colonne UltraSepESEX C₁₈ (simulation basée sur trois séries de données préliminaires de référence obtenues à trois valeurs de pH de la phase mobile pH 2.64, 3.60 et 4.10) .

Nous avons élué le mélange des solutés neutres et celui des solutés acides dans les mêmes conditions opératoires que celles sélectionnées pour simuler les chromatogrammes par le DryLab. Les **Figures 30** et **31** montrent les deux types de chromatogrammes.

La comparaison des chromatogrammes simulés avec ceux obtenus expérimentalement montre qu'ils sont similaires (résolution et sélectivité).

B) Prédiction des temps de rétention :

Après la réalisation de quelques expérimentations en faisant varier un paramètre expérimental, en se basant sur ces données, l'un des avantages du DryLab c'est de pouvoir prédire des temps de rétention sous d'autres conditions opératoires choisies par l'analyste. Pour cela, la qualité des temps de rétention générés par le DryLab a été estimée sous diverses conditions opératoires (différentes compositions ou pH de la phase mobile) pour les solutés neutres et les solutés acides. Ces données ont été vérifiées expérimentalement. L'ensemble de ces résultats est regroupé dans les **Tableaux XXI** et **XXII** et suggère les remarques suivantes :

- Les temps de rétention prédits à 55% MeOH à partir des données expérimentales initiales obtenues à 50 et 70% MeOH ou à partir de 50 et 60% MeOH (2 séries de données préliminaires de référence) comparés avec ceux obtenus expérimentalement est tout à fait satisfaisante; puisque l'erreur moyenne sur les temps de rétention n'excède pas 5.50 %. Par contre, si on utilise les données de trois expérimentations préliminaires de référence (50, 60 et 70% MeOH) l'erreur moyenne sur les temps de rétention diminue notablement (0.67%) (**Tableau XXI**).
- Les temps de rétention prédits à un pH intermédiaire pH 3.00 à partir des données expérimentales initiales obtenues à pH 2.64, 3.60 et 4.10 (3 expérimentations préliminaires de référence) sont en bon accord avec ceux obtenus expérimentalement; puisque l'erreur moyenne sur les temps de rétention est de 2.27% (**Tableau XXII**). Par contre, pour une prédiction à un pH hors du domaine des 3 manipulations de référence, la comparaison montre que l'erreur moyenne augmente (5.40%).

D'autre part, nous avons prédit les temps de rétention à 55% MeOH sur trois matériaux C₁₈ (**Tableau XXIII**) en se basant sur les données expérimentales obtenues à 50 et 60% MeOH.

En examinons le tableau, nous pouvons constater que l'erreur moyenne sur les temps de rétention n'excède pas 2.00% pour les deux colonnes UltraSepESEX C₁₈ et Nucléosil (100) C₁₈. Tandis que, celle relevée sur la colonne Eurospher C₁₈ a atteint 5.33%. Le meilleur accord entre les temps de rétention expérimentaux et ceux prédits par le DryLab a été relevé sur la colonne UltrasepESEX C₁₈ (0.55%).

Sur la base des résultats obtenus, nous pouvons dire que, les temps de rétention prédits par le DryLab sont comparables à ceux obtenus expérimentalement.

Tableau XXI: Comparaison des temps de rétention expérimentaux avec ceux prédits par le DryLab pour différentes compositions de la phase mobile.

Conditions : Solutés neutres (colonne Nucleosil (100) C₁₈); phase mobile (55:45 (v/v) en méthanol-eau)).

Solutés acides (colonne UltraSepESEX C₁₈); phase mobile (55:45 (v/v) méthanol-tampon phosphate pH 2.64)).

Composés organiques nitrés	Temps de rétention (minutes)								
	DryLab ^a	Exp. ^a	% Erreur	DryLab ^b	Exp. ^b	% Erreur	DryLab ^c	Exp. ^c	% Erreur
Solutés neutres									
Octogène	3.05	2.99	1.96	3.01	2.99	0.66	2.99	2.99	0.00
Hexogène	4.73	4.58	3.57	4.65	4.58	1.50	4.60	4.58	0.43
1,3,5-TNB	5.81	5.65	2.75	5.72	5.65	1.22	5.67	5.65	0.35
Tetryl	7.35	7.00	4.76	7.15	7.00	2.09	7.04	7.00	0.56
1,3-DNB	8.19	7.88	3.78	8.01	7.88	1.62	7.92	7.88	0.50
2,4,6-TNT	8.77	8.35	4.78	8.38	8.35	0.35	8.19	8.35	1.95
4-A-2,6-DNT	9.93	9.39	5.43	9.62	9.39	2.39	9.47	9.39	0.84
2-A-4,6-DNT	10.85	10.24	5.62	10.47	10.24	2.19	10.29	10.24	0.48
2,6-DNT	11.58	10.94	5.52	11.19	10.94	2.23	11.00	10.94	0.54
2,4-DNT	12.42	11.75	5.39	12.02	11.75	2.24	11.83	11.75	0.67
2-NT	14.19	13.30	6.27	13.65	13.30	2.56	13.39	13.30	0.67
4-NT	15.24	14.27	6.36	14.66	14.27	2.66	14.39	14.27	0.83
3-NT	16.32	15.30	6.25	15.70	15.30	2.54	15.41	15.30	0.71
DPA	35.96	32.82	8.73	34.04	32.82	3.58	33.12	32.82	0.90
	Erreur moyenne: 5.08 %			Erreur moyenne: 1.98 %			Erreur moyenne: 0.67 %		
Solutés acides									
4-NP	5.56	5.30	4.67	5.49	5.30	3.46	5.36	5.30	1.11
3-NP	6.05	5.72	5.45	5.89	5.72	2.88	5.60	5.72	2.14
2,4-DNP	6.95	6.40	7.91	6.62	6.40	3.32	6.04	6.40	5.96
4-M-2,6-DNP	8.32	7.95	4.44	8.22	7.95	3.28	8.03	7.95	0.99
3,5-DNP	10.52	10.12	3.80	10.47	10.12	3.34	10.35	10.12	2.22
2-M-4,6-DNP	14.62	14.01	4.17	14.54	14.01	3.64	14.39	14.01	2.64
	Erreur moyenne: 5.07%			Erreur moyenne :3.32%			Erreur moyenne :2.51%		

(a) Prédiction à 55% MeOH basée sur 2 manipulations préliminaires de référence à 50 et 70 % MeOH.

(b) Prédiction à 55% MeOH basée sur 2 manipulations préliminaires de référence à 50 et 60 % MeOH.

(c) Prédiction à 55% MeOH basée sur 3 manipulations préliminaires de référence à 50, 60 et 70 % MeOH.

Tableau XXII : Comparaison des temps de rétention expérimentaux avec ceux prédits par le DryLab pour différentes valeurs du pH de la phase mobile.

Conditions : Colonne (UltraSepESEX C₁₈) ; phase mobile ((50 :50 (v/v) en méthanol-tampon phosphate)).

Composés organiques nitrés	Temps de rétention (minutes)								
	Prédiction à pH 4.10			Prédiction à pH 3.00			Prédiction à pH 2.64		
	DryLab ^a	Exp. ^a	% Erreur	DryLab ^b	Exp. ^b	% Erreur	DryLab ^c	Exp. ^c	% Erreur
Solutés neutres									
Octogène	2.88	3.25	12.84	3.15	3.26	3.49	3.33	3.38	1.50
Hexogène	5.89	5.33	9.50	6.28	6.31	0.47	6.57	6.33	3.65
1,3,5-TNB	7.47	6.92	7.36	7.94	7.83	1.38	8.03	7.97	0.74
Tetryl	10.13	9.13	9.87	10.88	10.92	0.36	11.37	11.00	3.25
1,3-DNB	11.62	10.40	10.49	12.20	11.97	1.88	12.14	12.32	1.48
2,4,6-TNT	12.40	11.12	10.32	13.03	12.80	1.76	13.01	13.15	1.07
4-A-2,6-DNT	14.18	12.50	11.84	15.26	15.30	0.26	15.94	15.44	3.13
2-A-4,6-DNT	15.80	14.00	11.39	17.35	17.14	1.21	17.95	17.42	2.95
2,6-DNT	16.84	15.29	9.20	18.21	17.92	1.59	18.50	18.34	0.86
2,4-DNT	18.93	17.20	9.13	20.24	19.84	1.97	20.29	20.27	0.09
2-NT	21.12	19.59	7.24	22.43	22.05	1.69	22.53	22.57	0.17
4-NT	23.31	21.42	8.10	24.72	24.20	2.10	24.65	24.77	0.48
3-NT	24.73	23.06	6.75	26.27	25.84	1.63	26.41	26.52	0.41
Erreur moyenne : 9.54 %			Erreur moyenne : 1.52 %			Erreur moyenne : 1.52 %			
Solutés acides									
4-NP	6.66	6.37	4.35	7.40	7.51	1.48	7.78	7.42	4.62
3-NP	7.20	6.92	3.88	8.02	8.15	1.62	8.44	8.05	4.62
2,4-DNP	5.40	4.88	9.63	8.75	9.08	3.77	--	--	--
4-M-2,6-DNP	7.88	7.54	4.31	11.65	11.85	1.71	12.22	11.99	1.88
3,5-DNP	13.02	12.49	4.07	15.21	15.43	1.44	16.21	15.29	5.67
2-M-4,6-DNP	14.19	13.38	5.70	21.52	22.30	3.62	23.24	22.28	4.13
Erreur moyenne : 5.32 %			Erreur moyenne : 2.27 %			Erreur moyenne : 4.18 %			

(a) Prédiction à pH 4.10 basée sur 3 manipulations préliminaires de référence à pH 2.64, 3.00 et 3.60.

(b) Prédiction à pH 3.00 basée sur 3 manipulations préliminaires de référence à pH 2.64, 3.60 et 4.10.

(c) Prédiction à pH 2.64 basée sur 3 manipulations préliminaires de référence à pH 3.00, 3.60 et 6.06.

Tableau XXIII: Comparaison des temps de rétention expérimentaux avec ceux prédits par le DryLab sur divers matériaux C₁₈.

Composés organiques nitrés	Temps de rétention (minutes)								
	UltraSepESEX C ₁₈			Eurosphere C ₁₈			Nucléosil (100) C ₁₈		
	DryLab ^a	Exp.	% Erreur	DryLab	Exp.	% Erreur	DryLab	Exp.	% Erreur
Solutés neutres									
Octogène	--	--	--	--	--	--	3.01	2.99	0.66
Hexogène	4.97	4.98	0.20	4.96	4.95	0.20	4.65	4.58	1.50
1,3,5-TNB	6.16	6.27	1.78	6.10	5.97	2.13	5.72	5.65	1.22
Tetryl	7.31	7.58	3.69	7.29	6.95	4.66	7.15	7.00	2.09
1,3-DNB	8.99	8.87	1.33	8.50	8.20	3.53	8.01	7.88	1.62
2,4,6-TNT	9.22	8.87	3.79	9.26	8.50	8.20	8.38	8.35	0.35
4-A-2,6-DNT	10.06	9.75	3.08	10.78	9.79	9.19	9.62	9.39	2.39
2-A-4,6-DNT	11.59	11.20	3.11	11.25	9.79	12.97	10.47	10.24	2.19
2,6-DNT	12.32	11.97	2.84	11.85	10.74	9.36	11.19	10.94	2.23
2,4-DNT	13.73	13.50	1.67	12.46	11.94	4.17	12.02	11.75	2.24
2-NT	15.06	14.69	2.45	13.83	13.32	3.68	13.65	13.30	2.56
4-NT	16.55	16.46	0.54	15.02	14.57	2.99	14.66	14.27	2.66
3-NT	17.51	17.44	0.39	15.80	15.34	2.91	15.70	15.30	2.54
DPA	--	--	--	--	--	--	34.04	32.82	3.58
	Erreur moyenne : 0.55 %			Erreur moyenne : 5.33 %			Erreur moyenne : 1.98 %		

(a) Prédiction à 55% MeOH basée sur 2 manipulations préliminaires de référence 50 et 60 % MeOH.

V.2.2.C. Influence de la nature de la colonne sur la séparation :

- **Pour les solutés neutres :**

L'étude de l'influence de la nature du matériau de remplissage ainsi que la nature de la phase stationnaire sur la séparation des solutés nitramines, nitro et aminonitroaromatiques a été réalisée sur plusieurs colonnes. Nous présentons les résultats obtenus sur sept colonnes que nous avons réparties en deux groupes :

- * **Quatre colonnes nominalement équivalentes remplies par divers matériaux C₁₈ :**

- Nucléosil (100) (Macherey-Nagel).
- UltraSepESEX (Sepserv).
- Spherisorb-ODS2 (Hewlett Packard).
- Eurospher (Knauer).

Ces quatre colonnes ont des dimensions géométriques identiques (longueur: 250 mm ; diamètre interne: 4 mm ; dimension des particules: 5 µm et dimension des pores:100 Å) :

- * **Trois colonnes remplies par diverses phases stationnaires :**

- Nucléosil C₈ (Macherey-Nagel ; longueur : 250mm ; diamètre interne : 4 mm et dimension des particules : 5µm).
- Nitrophényl (Cosmosil ; longueur : 150mm ; diamètre interne : 4.6 mm et dimension des particules : 5µm).
- Hypercarb PGC (carbone graphite poreux) (Shandon ; longueur : 100mm ; diamètre interne : 4.6 mm et dimension des particules : 7µm).

L'ordre d'élution ainsi que les valeurs des facteurs de rétention obtenus sur les sept colonnes sont reportés dans les **Tableaux XXIV** et **XXV**. L'examen de ces derniers nous permet de tirer les observations suivantes :

- Sur les quatre matériaux C₁₈, la séparation des solutés neutres est satisfaisante. Toutefois, il est à noter que la colonne Eurospher C₁₈ a montré une sélectivité différente comparativement aux trois autres colonnes Nucléosil (100) C₁₈, Spherisorb-ODS2 C₁₈ et UltrasepESEX C₁₈. La meilleure séparation des solutés neutres a été obtenue sur la colonne Eurospher C₁₈ (**Figure 32**).
- Une sélectivité différente des solutés neutres a été relevée sur les colonnes Nucléosil C₈, Nitrophényl et Hypercarb PGC (carbone graphite poreux) qui résulte de coélutions et des inversions d'ordre d'élution de certains solutés. Sur la colonne Nucléosil C₈, nous assistons à une inversion d'ordre d'élution des solutés tetryl et 1,3-DNB. De plus, une mauvaise séparation des diammonitrotoluènes et dinitrotoluènes a été relevée sur cette colonne (**Figure 33**).

- L'ordre d'éluion des 14 solutés neutres sur les deux colonnes Nitrophényl et Hypercarb PGC est complètement différent de celui observé sur les quatre matériaux C₁₈ et la colonne C₈. En effet, la rétention des solutés isomères dinitrotoluènes et aminodinitrotoluènes est complètement différente de celle observée sur les matériaux C₁₈. Nous pouvons également remarquer que d'une manière générale la rétention croît avec le nombre de groupement nitro. (Figures 34 et 35).

La colonne PGC a montré une rétention très importante. Ceci est certainement dû à l'hydrophobicité élevée de cette phase, qui exige une phase mobile constituée d'un pourcentage élevé en solvant organique (% méthanol > 85 %) et qui conduit à l'obtention d'une séparation non satisfaisante, due à une efficacité faible de ce type de colonne.

• **Pour les solutés acides :**

La séparation des solutés acides (nitrophénols) a été possible sur l'ensemble des colonnes C₁₈ étudiées dans ce travail et ceci en utilisant une phase mobile tamponnée avec un pH acide (méthanol-tampon phosphate). Une bonne séparation des nitrophénols a été également obtenue en utilisant une phase mobile non tamponnée mais l'ordre d'éluion des solutés est complètement différent (Tableau XXVI).

Tableau XXIV: Ordre d'éluion et facteurs de rétention des solutés nitramines, nitro et aminonitroaromatiques sur divers matériaux C₁₈ (55:45 (v/v) en méthanol-eau).

Colonne C ₁₈	Nucléosil (100) (Macherey-Nagel)		UltraSepESEX (Sepserv)		Spherisorb-ODS2 (Hewlett Packard)		Eurospher (Knauer)	
	ordre	k'	ordre	k'	ordre	k'	ordre	k'
Solutés neutres								
Octogène	1	0.285	1	0.256	1	0.256	1	0.445
Hexogène	2	1.017	2	1.249	2	0.962	2	1.519
1,3,5-TNB	3	1.484	3	1.815	3	1.350	3	2.374
Tetryl	4	2.125	4	2.542	4	2.002	4	3.257
1,3-DNB	5	2.538	5	3.171	5	2.440	5	4.039
2,4,6-TNT	6	2.731	6	3.313	6	2.586	6	4.764
4-A-2,6-DNT	7	3.261	7	3.825	7	3.013	7	5.560
2-A-4,6-DNT	8	3.664	8	4.417	8	3.429	8	5.601
2,6-DNT	9	3.974	9	4.785	9	3.885	9	5.859
2,4-DNT	10	4.370	10	5.458	10	4.474	10	5.889
2-NT	11	5.079	11	6.071	11	5.303	11	7.375
4-NT	12	5.554	12	6.746	12	5.920	12	8.086
3-NT	13	6.020	13	7.256	13	6.358	13	8.726
DPA	14	14.463	14	18.082	14	15.291	14	27.679

Tableau XXV: Ordre d'élution et facteurs de rétention des solutés nitramines, nitro et aminonitroaromatiques sur diverses phases stationnaires.

Colonne	Eurosphe ^r C ₁₈ (Knauer)		Nucléosil C ₈ (Macherey-Nagel)		Nitrophényl (Cosmosil)		Hypercarb PGC (Shandon)	
phase mobile	55:45 (v/v) en MeOH-H ₂ O				62:38 (v/v) en MeOH-H ₂ O		95:05 (v/v) en MeOH-H ₂ O	
	ordre	k'	ordre	k'	ordre	k'	ordre	k'
Solutés neutres								
Octogène	1	0.445	1	0.253	13	18.940	3	3.180
Hexogène	2	1.519	2	0.935	7	8.210	1	1.220
1,3,5-TNB	3	2.374	3	1.252	5	6.950	12	41.230
Tetryl	4	3.257	5	2.107	8	8.250	4	4.390
1,3-DNB	5	4.039	4	1.748	4	6.230	9	18.390
2,4,6-TNT	6	4.764	6	2.286	11	13.930	10	28.220
4-A-2,6-DNT	7	5.560	7	3.035*	9	9.950	8	17.260
2-A-4,6-DNT	8	5.601	8	3.035*	12	17.830	13	41.400
2,6-DNT	9	5.859	9	3.109*	6	7.310	5	5.190
2,4-DNT	10	5.889	10	3.109*	10	13.350	11	28.470
2-NT	11	7.375	11	3.572	1	4.640	2	3.000
4-NT	12	8.086	12	3.703	2	5.420	7	6.710
3-NT	13	8.726	13	4.071	3	5.620	6	5.240
DPA	14	27.679	14	11.478	--	--	--	--

(*) Pics coélus.

Tableau XXVI: Ordre d'élution et facteurs de rétention des nitrophénols sur la colonne UltraSepESEX C₁₈ en utilisant deux types de phases mobiles.

Phase mobile	50:50 (v/v) en MeOH-tampon phosphate pH 2.64		50:50 (v/v) en MeOH-H ₂ O	
	ordre	k'	ordre	k'
Solutés acides				
4-NP	1	1.630	4	2.753
3-NP	2	1.851	5	3.093
2,4-DNP	3	2.276	1	0.044
4-M-2,6-DNP	4	3.247	2	0.339
3,5-DNP	5	4.413	6	6.367
2-M-4,6-DNP	6	6.889	3	0.979

➤ **Deuxième Partie :**

V.3. Analyse par CLHP avec double détection (Ultraviolet/Electrochimique) d'un échantillon d'eau polluée:

Comme exemple d'application de l'analyse par CLHP des composés organiques nitrés menée dans la première partie de ce chapitre, nous avons étudié qualitativement dans cette deuxième partie, un échantillon d'eau collecté à proximité d'une usine de fabrication des explosifs à Elsnig (Saxon, Allemagne). Les sols et les eaux autour de cette région ont été rapportés comme étant contaminés par les résidus des explosifs qui étaient fabriqués par l'usine.

Comme nous l'avons mentionné auparavant, dans la pratique, la séparation d'une série de composés organiques nitrés par CLHP sur une colonne en une seule manipulation chromatographique s'avère difficile. Avant de procéder à la séparation d'un mélange complexe, une préséparation des différents constituants en plusieurs fractions s'avère nécessaire afin d'éviter certaines interférences et faciliter le processus d'identification. Pour cela, nous avons effectué une extraction liquide-liquide discontinue à pH 9 afin d'extraire les solutés neutres et une extraction liquide-liquide continue à pH 2 pour extraire la fraction acide. Nous avons utilisé les conditions d'extractions optimales reportées par U.Lewin [128]. Nous donnons le protocole détaillé de l'échantillonnage et de l'extraction.

V.3.1. Echantillonnage et Extraction :

- ***Echantillonnage :***

Les échantillons d'eau ont été collectés au niveau d'un puits à 30 mètres de profondeur, situé à quelques mètres du site où se trouvait l'usine de fabrication des explosifs d'Elsnig (Allemagne). Les échantillons ont été conservés dans des flacons en verre fumé à 4°C jusqu'à leur utilisation.

- ***Extraction liquide-liquide et fractionnement :***

Dans une première étape, nous avons pris un échantillon d'eau de 1 litre que nous avons ajusté à pH 9 afin d'extraire les solutés neutres au moyen d'une extraction liquide-liquide discontinue. Après élimination des solutés neutres, la solution aqueuse récupérée a été utilisée pour extraire les solutés acides à pH 2 au moyen d'une extraction liquide-liquide continue.

- Extraction liquide-liquide discontinue :

Dans une première étape, un échantillon de 1 litre d'eau (ajustée à pH 9) et 25 ml de dichlorométhane sont mis dans un erlenmeyer; le tout est agité fortement (agitation magnétique) pendant une durée de 30 minutes. Le mélange est ensuite transféré dans une ampoule à décanter (l'opération a été refaite 3 fois). La phase organique est ensuite concentrée l'aide d'un rotavapor jusqu'à l'obtention d'une solution de 1 ml. La fraction neutre peut contenir des nitramines, nitroaromatiques et aminonitroaromatiques.

On conserve la phase aqueuse récupérée pour l'utiliser dans la deuxième étape.

- Extraction liquide-liquide continue :

Dans une deuxième étape, on ajoute 150 ml de dichlorométhane à la solution aqueuse récupérée après élimination des solutés neutres (la solution aqueuse a été ajustée à pH 2). L'ensemble est mis dans un « heavy phase rotary perforator » afin d'extraire la fraction acide (pH 2). Le temps d'extraction est de 10 heures. L'extrait est ensuite concentré à l'aide d'un rotavapor jusqu'à l'obtention d'une solution de 1 ml. La fraction acide peut contenir des nitrophénols.

Le schéma de l'extraction est résumé sur la **Figure 36**.

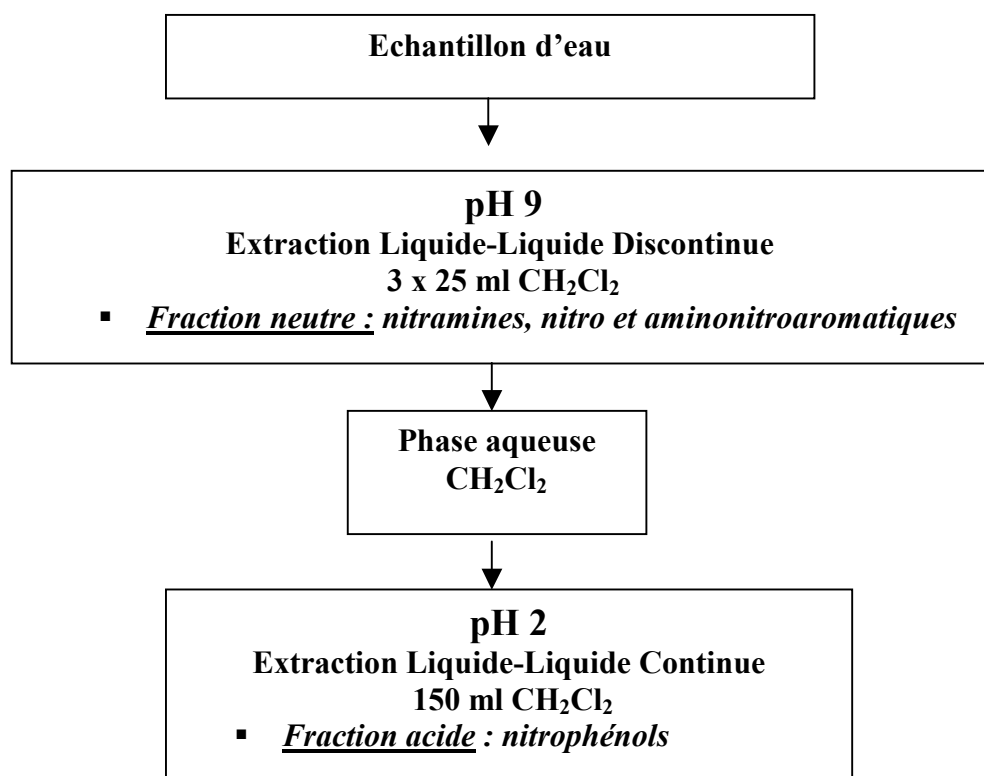


Figure 36 : Schéma d'extraction.

V.3.2. Détection des composés organiques nitrés :

- **Détection UV :**

Le détecteur UV est le plus couramment utilisé pour la détection des composés organiques nitrés. La sensibilité élevée que manifeste ce dernier à l'égard des composés nitroaromatiques conduit à une absorbance dans l'UV au voisinage de 254 nm. A cette longueur d'onde, il est également possible de détecter les nitramines, et les aminonitroaromatiques.

- **Détection électrochimique :**

Le détecteur électrochimique met à profit les propriétés oxydoréductrices des solutés. Il peut présenter un intérêt pour le chromatographe du fait de la sélectivité et de la sensibilité supplémentaire qu'il apporte pour certaines classes de composés : drogues, polluants et produits naturels. Ceci présente un avantage considérable dans leurs déterminations dans des matrices complexes.

En principe, tous les composés nitroaromatiques peuvent être détectés à l'aide d'une détection électrochimique en mode de réduction (mode négatif). Les phénols ainsi que les composés aromatiques comportant un groupement amine peuvent être détectés en mode d'oxydation (mode positif). Toutefois, compte tenu de la difficulté que présente l'élimination de l'oxygène dissous dans la phase mobile, la plupart des applications sont fondées sur des réactions électrochimiques d'oxydation.

Dans ce travail, nous avons utilisé le détecteur électrochimique pour la détection des composés organiques nitrés. La méthode que nous avons utilisée, est une détection ampérométrique en mode d'oxydation. Le potentiel de travail a été optimisé par un voltamogramme dynamique obtenu en éluant le mélange standard à différents potentiels. Ceci est nécessaire pour deux raisons :

- La sensibilité (le potentiel imposé à l'électrode de travail doit correspondre au palier de diffusion de la courbe intensité-potentiel du composé à détecter).
- La sélectivité (cas de plusieurs espèces électroactives dont la résolution chromatographique est insuffisante).

L'électrode de travail est constituée par du carbone vitreux parfaitement poli. Cette électrode possède un large domaine de potentiel d'utilisation de -1.3 à $+1.3$ V. L'électrode de référence est une électrode Ag/AgCl. La détection électrochimique a été effectuée en mode d'oxydation à un potentiel de 1.2 volts.

V.3.3. Résultats et discussion :

Nous avons procédé à l'analyse par CLHP avec double détection (ultraviolet et électrochimique) d'un échantillon d'eau collecté dans la région d'Elsnig (Saxon, Allemagne). Une préséparation des solutés dans deux fractions nous a permis d'obtenir :

- La fraction neutre obtenue par extraction liquide-liquide discontinue à pH 9.
- La fraction acide obtenue par une extraction liquide-liquide à pH 2.

Les chromatogrammes des deux fractions éluées sur la colonne Spherisorb-ODS2 C₁₈ pour une composition optimale de phase mobile 51 :49 (v/v) en méthanol-tampon phosphate pH 3.0 sont illustrés sur les **Figures 37** et **38**.

En examinant le chromatogramme de la fraction neutre, nous pouvons constater que, l'identification des solutés aminonitrotoluènes (4-A-2,6-DNT et 2-A-4,6-DNT) est immédiate puisque ces derniers sont détectés simultanément par l'UV à une longueur d'onde de 254 nm et par le détecteur électrochimique à un potentiel de 1.2 volts. La comparaison des indices de rétention déterminés par la méthode multiparamétrique des étalons de référence, nous a permis d'identifier 12 solutés dans la fraction neutre : octogène, hexogène, 1,3,5-TNB, tetryl, 2,4,6-TNT, 4-A-2,6-DNT, 2-A-4,6-DNT, 2,6-DNT, 2,4-DNT, 2-NT, 4-NT et 3-NT (**Figure 37**).

Les solutés nitramines, nitroaromatiques et nitroaminoaromatiques sont les principaux composés contenus dans la fraction neutre. Ces solutés sont les polluants les plus courants recensés à proximité de l'usine d'Elsnig [131].

A travers le chromatogramme de la fraction acide, nous constatons que, la préséparation des deux solutés nitramines octogène et hexogène par extraction liquide-liquide discontinue à pH 9 n'a pas été totale. En effet, ces deux solutés nitramines ont été identifiés dans la fraction acide (**Figure 38**). De plus, nous avons identifié 6 solutés nitrophénols dans la fraction acide :

2,4-DNP, 4-NP, 3-NP, 4-A- 2,6-DNP, 3,5-DNP et 2-M-4,6-DNP.

D'autre part, le chromatogramme de la fraction acide obtenu par détection électrochimique à un potentiel de 1.2 volts a montré plusieurs pics (non identifiés) qui n'ont pas été détectés par l'UV à 254 nm.

Les nitrophénols sont des produits de dégradation des aminoaromatiques et des nitroaminoaromatiques.

Sur la base des résultats obtenus, nous pouvons dire que, la CLHP avec double détection UV-EC nous a permis plus d'informations dans l'identification des aminoaromatiques dans la fraction neutre ainsi que celle des nitrophénols dans la fraction acide.

V.4. Conclusion :

L'utilisation du programme de simulation par ordinateur « DryLab », nous a permis de réaliser un gain de temps considérable dans l'étude du comportement de rétention des composés organiques nitrés. L'utilisation du DryLab nous a permis également de générer plusieurs données de rétention en quelques secondes seulement et ceci à partir de quelques manipulations préliminaires de référence sous différentes conditions chromatographiques de séparation.

L'étude entreprise par CLHP avec double détection (Ultraviolet/Electrochimique), a montré que le détecteur électrochimique (mode d'oxydation) peut être d'un apport complémentaire à la détection UV pour les solutés aminonitroaromatiques et nitrophénols, mais ne peut en aucun cas le remplacer.

Afin de procéder à l'identification des composés organiques nitrés contenus dans un échantillon d'eau collecté à Elsnig (Allemagne), nous avons jugé nécessaire d'effectuer une préséparation des solutés dans plusieurs fractions à différentes valeurs de pH.

La technique CLHP/UV/EC a permis d'identifier 13 solutés (nitramines, nitro et aminonitroaromatiques) dans la fraction neutre extraite à pH 9 et 6 solutés (nitrophénols) dans la fraction acide extraite à pH 2.

Ce travail constitue une contribution à l'étude systématique de la rétention de séries congénériques en chromatographie liquide à haute performance (CLHP). La rétention des séries homologues 2-cétones, alkylphénones, 1-nitroalcanes et des composés nitramines, nitroaromatiques, nitroaminoaromatiques et nitrophénols a été décrite à partir des données de rétention déterminées par une méthode multiparamétrique que nous avons développée pour la première fois en CLHP.

Dans le but d'obtenir la précision requise pour la comparaison des données de rétention inter-laboratoires, nous avons déterminé des grandeurs de rétention corrigées par la connaissance du temps mort de la colonne t_M en utilisant différentes techniques mathématiques. Un certain nombre de conclusions ont pu être tirées :

- La méthode multiparamétrique que nous avons développée en CLHP, nous a permis d'obtenir dans un intervalle de temps court des paramètres (t_M et B) de haute qualité. La comparaison des divers résultats (t_M et B) avec ceux obtenus par la méthode statistique de Grobler et la méthode itérative de Guardino, a fait apparaître un très bon accord.

- Les critères statistiques (écarts types sur les paramètres et erreurs résiduelles) fournis par notre méthode, nous ont permis d'accepter ou de rejeter une série homologue dans l'estimation du t_M . Cependant, les critères statistiques obtenus par la méthode multiparamétrique et celle de Guardino sont généralement satisfaisants dans le cas des séries 2-cétones, 1-nitroalcanes et alkylphénones. Cependant, la méthode de Grobler a donné des valeurs plus élevées. D'autre part, le temps mort a été également évalué expérimentalement en utilisant deux solutés supposés non retenus : le nitrate de sodium et la thiocarbamide.

- En outre, la variation de t_M et B a été examinée en fonction du nombre d'homologues, la composition de la phase mobile, la température de la colonne et la nature du matériau de remplissage de la colonne. Elle a été aussi étudiée, en fonction de la nature de la série homologue. De cette étude, il ressort qu'une variation faible mais de sens non monotone des valeurs de t_M en fonction de la composition de la phase mobile ainsi que la température de la colonne a été relevée et ceci pour les séries homologues aliphatiques : 2-cétones et 1-nitroalcanes. Néanmoins, la série aromatique des alkylphénones a montré de manière générale un comportement irrégulier. Le temps mort évalué expérimentalement en utilisant le nitrate de sodium est généralement inférieur à celui estimé par les autres méthodes mathématiques, alors que, la thiocarbamide a donné des valeurs de t_M de même ordre de grandeur que celles déterminées à partir des 2-cétones. La comparaison des valeurs de t_M obtenues sur divers matériaux C₁₈, nous a permis de relever certaines fluctuations qui restent sensiblement faibles.

A partir des résultats (t_M et B) des différentes régressions mathématiques, nous avons déterminé dans une seconde étape les indices de rétention d'une vingtaine de composés organiques nitrés (nitramines, nitroaromatiques, aminonitroaromatiques et nitrophénols). Ces indices de rétention nous ont permis de retenir ce qui suit :

- L'application de la méthode multiparamétrique pour la détermination des indices de rétention des composés organiques nitrés, a donné des résultats satisfaisants. La comparaison des indices de rétention calculés par la multiparamétrie avec ceux obtenus par les méthodes de Guardino, Grobler et Kovàts a montré un très bon accord. Les critères statistiques les plus satisfaisants sont ceux obtenus en utilisant la série des 1-nitroalcanes.
- Les facteurs, tels que, l'utilisation de divers matériaux de remplissage pour une même phase stationnaire, la variation de la température de la colonne, la composition de la phase mobile ou de son pH contribuent à la variation des indices de rétention de l'ensemble des composés organiques nitrés étudiés dans ce travail.

Dans le cadre d'une application à l'identification des composés organiques nitrés contenus dans des échantillons d'eaux contaminées par les résidus d'explosifs provenant d'une ex-usine de production d'explosifs à Elsnig (Saxon, Allemagne), nous avons utilisé la CLHP avec double détection (ultraviolet/électrochimique). Pour optimiser les conditions de séparations, nous avons utilisé un programme commercial de modélisation des données (DryLab).

- L'utilisation du programme de simulation par ordinateur « DryLab », nous a permis de réaliser un gain de temps considérable dans l'étude du comportement de rétention des composés organiques nitrés. L'utilisation de ce logiciel nous a permis également de générer plusieurs données en quelques secondes seulement et ceci à partir de quelques manipulations préliminaires de référence effectuées sous différentes conditions de séparation chromatographiques.
- Afin de procéder à l'identification des composés organiques nitrés contenus dans un échantillon d'eau polluée, nous avons jugé nécessaire d'effectuer une préséparation des solutés dans plusieurs fractions à différentes valeurs de pH afin d'éviter certaines interférences.
- La CLHP avec double détection (UV/EC) a permis d'identifier 13 solutés (nitramines, nitro et aminonitroaromatiques) dans la fraction neutre extraite à pH 9 et 6 solutés (nitrophénols) dans la fraction acide extraite à pH 2. Cette identification a été réalisée sur la base des valeurs des indices de rétention des étalons de référence déterminés par la méthode multiparamétrique.
- Le détecteur électrochimique a montré une sensibilité et une sélectivité élevées vis à vis des aminoaromatiques et des nitrophénols. La détection électrochimique couplée avec l'UV a conduit à l'obtention de plus d'informations dans l'investigation des échantillons réels.

➤ **Chromatographie liquide à haute performance (CLHP) :**

Pour la réalisation de ce travail nous avons utilisé deux chromatographes :

- **Appareillage A :** les résultats consignés dans les chapitres II, III, IV.
- **Appareillage B :** les résultats reportés dans le chapitre V.

• **Appareillage A:** un chromatographe liquide Knauer a été utilisé muni de :

- une pompe Maxi-star K-1001 contrôlée par un software Eurochrom 2000 (Knauer).
- un injecteur automatique à 6 valves K-6 muni d'une loupe de 5 μ l.
- un détecteur photodiode-array K-2150 (aux longueurs d'onde 254 et 220 nm).
- un régulateur thermique qui permet le control de la température de la colonne (précision : ± 0.1 °C).

• **Appareillage B:** un chromatographe liquide HP (Hewlett Packard) a été utilisé muni de :

- une pompe quaternaire (1050) contrôlée par un software (H.P.Chemstation).
- un injecteur de type Reodyne muni d'une loupe de 5 μ l.
- deux détecteurs couplés en série ont été utilisés : un détecteur UV/Visible (1050) à longueur d'onde variable (aux longueurs d'onde 254 et 230 nm). Un détecteur électrochimique (1049) (électrode de travail : carbone vitreux et électrode de référence : Ag/AgCl). Une détection ampérométrique en mode d'oxydation a été réalisée à un potentiel + 1.2 volts.

• **Conditions de mesure :**

- Les solvants organiques utilisés sont le méthanol et l'acétonitrile. Ils sont des solvants (gradient Grade) qui proviennent de chez Merck ou Fluka. Ils sont filtrés et dégazés au préalable.
- L'eau utilisée a été préalablement distillée et ensuite filtrée en utilisant un appareil "MILLI-Q Plus", (Waters).
- Le débit de la phase mobile est 0.8 ou 1 ml/min.
- Les séries homologues et les composés organiques nitrés sont des produits commerciaux de très haute qualité [chromatographic reagent grade] et ont un taux de pureté annoncé supérieur à 98%. La provenance des produits utilisés est de Promochem, Merck, Aldrich ou Fluka.

- Les tampons phosphates ont été utilisés : une solution de phosphate dihydrogène de sodium (0.01 M) ajustée avec quelques gouttes d'acide phosphorique (85%) pour l'obtention d'une solution de pH acide désirée. Les mesures du pH ont été effectuées en utilisant un pH-mètre électronique (Roth) à une température ambiante de 22°C. Le pH de la phase mobile est celui de la solution aqueuse avant de l'avoir mélanger avec le solvant organique.

- [1] E.Kováts, *Helv. Chim. Acta.* (1958), **41**, 1915.
- [2] J.K.Baker, L.A.Cates, M.D.Corbett, J.W.Huber, D.L.Lattin, *J.Liq.Chromatogr.* (1982), **5(5)**, 829.
- [3] R.J.Smith, J.K.Haken, M.S.Wainwright, *J. Chromatogr.* (1985), **334**, 95.
- [4] L.S.Ettre, *Chromatographia* (1980), **13**, 73.
- [5] M.S.Wainwright, J.K.Haken, *J.Chromatogr.* (1980), **184**, 1.
- [6] A.Malik, K.Jinno, *Chromatographia* (1990), **30 (3/4)**, 135.
- [7] A.Touabet, thèse de Doctorat Es-Sciences, juin (1990), USTHB.
- [8] L.Didaoui, thèse de Magistère, septembre (1993), USTHB.
- [9] W.E.Wentworth, *J. Chem. Ed.* (1965), **42**, 96.
- [10] M.Maeck, A.Y.Badjah Hadj Ahmed, A.Touabet, B.Y.Meklati, *Chromatographia* (1986), **22**, 245.
- [11] A.Touabet, M.Maeck, A.Y.Badjah Hadj Ahmed, B.Y.Meklati, *Chromatographia* (1988), **25**, 389.
- [12] E.H.Slaats, J.C.Kraak, W.J.T.Brugman, H.Poppe, *J. Chromatogr.* (1978), **149**, 255.
- [13] G.E.Berendsen, P.J.Schoenmakers, L. de Galan, G.Vigh, Z.Varga-Puchnoy, J.Inczedy, *J. Liq. Chromatogr.* (1980), **3(11)**, 1669.
- [14] R.M. McCormick, B.L. Karger, *Anal. Chem.* (1980), **52**, 2249.
- [15] A.M.Krstulovic, H.Colin, G.Guiochon, *Anal. Chem.* (1982), **54**, 2438.
- [16] H.Colin, N.Ward, G.Guiochon, *J. Chromatogr.* (1978), **149**, 169.
- [17] R.P.W.Scott, P.Kucera, *J. Chromatogr.* (1979), **175**, 51.
- [18] L.R.Snyder, J.J.Kirtland, (*Introduction to Modern Liquid Chromatography*), John Wiley & Sons, New York, (1979).
- [19] R.P.W.Scott, P.Kucera, *J. Chromatogr.* (1977), **142**, 213.
- [20] K.Karch, I.Sebastian, I.Halász, H.Engelhardt, *J. Chromatogr.* (1976), **122**, 171.
- [21] B.L.Karger, J.R.Gant, A.Hartkopf, P.H.Weiner, *J. Chromatogr.* (1976), **128**, 65.
- [22] P.Roumeliotis, K.K.Unger, *J. Chromatogr.* (1978), **149**, 211.
- [23] H.Engelhardt, H.Müller, B.Dreyer, *Chromatographia* (1984), **19**, 240.
- [24] W.Kenneth, J.R.Street, *J. Chromatographic Science* (1984), **22**, 225.
- [25] J.H.Knox, R.Kaliszan, G.Kennedy, *Symp. Faraday. Soc.* (1980), **15**, 113.
- [26] I.Halász, (*Modern Practice of Liquid Chromatography, ed.*), J.J.Kirtland, Wiley, New York, (1971).
- [27] J.H.Knox, R.Kaliszan, *J. Chromatogr.* (1985), **349**, 211.
- [28] A.W.J.De Jong, J.C.Kraak, H.Poppe, F.Nooitgedacht, *J. Chromatogr.* (1980), **193**, 181.
- [29] M.J.M.Wells, C.R.Clark, *Anal. Chem.* (1981), **53**, 1341.
- [30] H.J.Johnson, S.F.Cernosek, R.M.Grutierrez-Cernosek, *J.Chromatogr.* (1979), **177**, 297.
- [31] H.Horvath, H.J.Lin, *J.Chromatogr.* (1978), **149**, 43.
- [32] W.Melander, D.E.Campell, C.Horvath, *J.Chromatogr.* (1978), **158**, 215.
- [33] P.J.Schoenmakers, H.A.H.Billiet, R.Tijssen, L.Galan, *J.Chromatogr.*(1978), **149**, 519.

- [34] G.E.Berendsen, L. de Galan, *J. Liq. Chromatogr.* (1978), **1**, 561.
- [35] J.Hermansson, *J. Chromatogr.* (1978), **152**, 437.
- [36] N.E.Hoffman, J.C.Liao, *Anal. Lett.* (1978), **A11**, 307.
- [37] K.Jinno, N.Ozaki, T.Sato, *Chromatographia* (1983), **17**, 341.
- [38] J.W.Dolan, *LC-GC INT.* (1994), **17(1)**, 14.
- [39] B.Neidhart, K.P. Kringe, W.Brockmann, *J. Liq. Chromatogr.* (1981), **4(10)**, 1875.
- [40] B.Neidhart, K.P.Kring, W.Bockmann, *J. Liq. Chromatogr.* (1982), **5(7)**, 1395.
- [41] M.B.Evans, J.F.Smith, *J. Chromatogr.* (1962), **9**, 147.
- [42] W.K.Al-Thamir, J.H.Purnell, C.A.Wellington, *J. Chromatogr.* (1979), **173**, 388.
- [43] L.Ambrus, *J. Chromatogr.* (1984), **294**, 328.
- [44] A.Grobler, G.Balizs, *J. Chromatogr. Sci.* (1974), **12**, 57.
- [45] X.Guardino, J.Albaigés, G.Firpo, R.Rodriguez-vinals, M.Gassiot, *J. Chromatogr.* (1976), **118**, 13.
- [46] H.C.Furr, *J. Chromatogr. Sci.* (1989), **27**, 216.
- [47] R.J.Laub, S.J.Madden, *J. Liq. Chromatogr.* (1985), **8(1)**, 173.
- [48] M.S.Wainwright, C.S.Nieass, J.K.Haken, R.P.Chaplin, *J. Chromatogr.* (1985), **321**, 287.
- [49] P.J.M.Van Tulder, J.P.Franke, R.A.Zeeuw, *J. High Resol. Chromatogr.* (1987), **10**, 191.
- [50] R.A.Djerki, R.J.Laub, *J. Liq. Chromatogr.* (1987), **10(8/9)**, 1749.
- [51] M.C.Hennion, R.Rosset, *Chromatographia* (1988), **25(1)**, 43.
- [52] A.Alhedai, D.E.Martine, R.P.W.Scott, *Analyst* (1989), **114**, 869.
- [53] A.Malik, K.Jinno, *Chromatographia* (1990), **30(3/4)**, 138.
- [54] H.W tzig, S.Ebel, *Chromatographia* (1991), **31(11/12)**, 544.
- [55] A.Braithwaite, M. Cooper, *Chromatographia* (1993), **37(1/2)**, 86.
- [56] L.Didaoui, A.Touabet, B.Y. Meklati, *J. Soc.Alger.Chim.* (1996), **6(2)**, 243.
- [57] L.Didaoui, A.Touabet, B.Y. Meklati, *J. High Resol. Chromatogr.* (1996), **19**, 543.
- [58] L.Didaoui, A.Touabet, B.Y. Meklati, *J. High Resol. Chromatogr.* (1997), **20**, 605.
- [59] L.Didaoui, A. Touabet, A.Y. Badjah Hadj Ahmed, B.Y. Meklati, W. Engewald, *J. High Resol. Chromatogr.* (1999), **22(10)**, 559.
- [60] L.Didaoui, A. Touabet, B.Y. Meklati, U. Lewin, W. Engewald, *J. High Resol. Chromatogr.* (1999), **22(11)**, 613.
- [61] L.Didaoui, A.Touabet, B.Y. Meklati, Communication, (*23 Rd international symposium on high performance liquid phase separations and related techniques*), (1999), Granada, Espagne.
- [62] Hand book of chemistry and physics, 66th Edition, (1985-1986), CRC. Press Inc. Boca Raton, Florida, USA.
- [63] E.Grushka, H.Colin, G.Guiochon, *J. Liq. Chromatogr.* (1982), **5(7)**, 1391.
- [64] A.Tchapla, H.Colin, G.Guiochon, *Anal.Chem.* (1984), **56**, 621.

- [65] A.Tchapla, S.Heron, H.Colin, G.Guiochon, *Anal. Chem.* (1988), **60**, 1443.
- [66] R.Smith, *J. Chromatogr.* (1981), **13**, 619.
- [67] F.Riodo, E.Kováts, *J. Chromatogr.* (1982), **239**, 1.
- [68] M.Czok, H.Engelhardt, *Chromatographia* (1989), **27(1/2)**, 5.
- [69] L.R.Snyder, H.Poppe, *J. Chromatogr.* (1980), **184**, 363.
- [70] K.Valko, L.R.Snyder, J.L.Glajch, *J. Chromatogr.* (1993), **656**, 501.
- [71] G.Vigh, Z.Varga-puchony, *J. Chromatogr.* (1980), **196**, 1.
- [72] L.C.Tan, P.W.Carr, *J. Chromatogr.* (1993), **656**, 521.
- [73] W.R.Melander, Cs.Horváth, *Chromatographia* (1982), **15**, 86.
- [74] H.Engelhardt, H.Müller, B.Dreyer, *Chromatographia* (1984), **19**, 240.
- [75] H.Engelhardt, P.Orth, *J. Liq. Chromatogr.* (1987), **10**, 1999.
- [76] J.K. Baker, C.J. Ma, *J.Chromatogr.* (1979), **169**, 107.
- [77] A.T. James, A.J.P. Martin, *Biochem.* (1952), **50**, 679.
- [78] J.F. Smith, *Chem. & Ind.* (London) (1960), 1024.
- [79] M.B. Evans, J.F.Smith, *J.Chromatogr.* (1961), **6**, 293.
- [80] J.K. Baker, *Anal. Chem.* (1979), **51(11)**, 1693.
- [81] J.K. Baker, *J. Chromatogr. Sci.* (1980), **18**, 153.
- [82] R.M. Smith, *J.Chromatogr.* (1982), **236**, 321.
- [83] R.M. Smith, *J.Chromatogr.* (1982), **236**, 313.
- [84] R.M. Smith, *Anal. Chem.* (1984), **56**, 256.
- [85] R.M. Smith, T.G. Hurdley, R.Gill, A.C. Moffat, *Chromatographia* (1984), **19**, 401.
- [86] R.M. Smith, T.G. Hurdley, R.Gill, A.C. Moffat, *Chromatographia* (1984), **19**, 407.
- [87] R.M. Smith, *trends in analytical chemistry* (1984), **3(7)**, 186.
- [88] R.M. Smith, *J.Chromatogr.* (1985), **324**, 243.
- [89] R.Gill, A.C. Moffat, R.M. Smith, T.G. Hurdley, *J.Chromatogr. Sci.* (1986), **240**, 153.
- [90] R.M.Smith, G.A.Murilla, T.G.Hurdley, R.Gill, A.C. Moffat, *J.Chromatogr.* (1987), **384**, 259.
- [91] R.M. Smith,G.A. Murilla, C.M. Burr, *J.Chromatogr.* (1987), **388**, 37.
- [92] R.M.Smith, J.P.Westlake, R.Gill, M.D.Osselton, *J.Chromatogr.* (1987), **398**, 73.
- [93] R.Gill, M.D.Osselton, R.M.Smith, T.G.Hurdley, *J.Chromatogr.* (1987), **386**, 65.
- [94] R.M.Smith, T.G.Hurdley, J.P.Westlake, R.Gill, D.A.Osselton, *J.Chromatogr.* (1988), **455**, 77.
- [95] R.M.Smith,G.A. Murilla, *J.Chromatogr.* (1989), **475**, 57.
- [96] R.M.Smith,G.A. Murilla, *J.Chromatogr.* (1989), **475**, 75.
- [97] R.Gill, D.A.Osselton, R.M.Smith, *J. pharmaceutical & biomedical Analysis* (1989), **7(4)**, 447.
- [98] R.M.Smith, J.P.Westlake, R.Gill, M.D.Osselton, *J.Chromatogr.* (1990), **514**, 97.
- [99] R.M. Smith, N.Finn, *J.Chromatogr.* (1991), **537**, 51.

- [100] R.M.Smith, J.P.Westlake, R.Gill, M.D.Osselton, *J.Chromatogr.* (1992), **592**, 85.
- [101] M.Bogusz, J.Gierz, *J. Chromatogr.* (1985), **342**, 241.
- [102] M.Bogusz, *J. Chromatogr.* (1987), **387**, 404.
- [103] M.Bogusz, R.Aderjan, R.A.DE Zeeuw, *Z. Rechtsmed* (1987), **98**, 263.
- [104] R.Aderjan, M.Bogusz, *J. Chromatogr.* (1988), **454**, 345.
- [105] M.Bogusz, R.Aderjan, *J. Chromatogr.* (1988), **435**, 43.
- [106] Letter to the Editor (de R.M. Smith à M.Bogusz): *J. Analytical toxicology* (1989), **13**, 375.
- [107] M.Bogusz, M.Erkens, R.D. Maier, I.Schröder, *J. Liq. Chromatogr.* (1992), **15(1)**, 127.
- [108] M.Bogusz, M.Erkens, J.P.Frank, J.Wijsbeek, R.A. DE Zeeuw, *J. Liq. Chromatogr.*(1993), **16(6)**, 1341.
- [109] M.Bogusz, J.P.Franke, R.A.Zeeuw, M.Erkens, *Fresenius J. Anal. Chem.* (1993), **347**, 73.
- [110] M.Bogusz, M. Erkens, *J. Chromatogr.* (1994), **674**, 97.
- [111] M.Bogusz, M. Erkens, *J. Analytical Toxicology* (1995), **19**, 51.
- [112] R.D. Maier, M. Bogusz, *J. Analytical Toxicology* (1995), **19**, 79.
- [113] M.Bogusz, D.W.Hill, A.R.Rehorek, *J.Liq.Chromatogr. & Rel. Technol.* (1996), **19(8)**, 1291.
- [114] K.Bratin, P.T.Kissinger, R.Briner, C.S.Bruntlett, *Analytica. Chemica. Acta.* (1981), **130**, 295.
- [115] J.B.F.Loyd, *J. Chromatogr.*(1983), **257**, 227.
- [116] R.D.Voyksner, J.Yinon, *J. Chromatogr.*(1986), **354**, 393.
- [117] C.A.H.Sterling, R.Greni, E.D.Erichson, *Anal. Chem.* (1982), **54**, 286.
- [118] M.P.Maskaric, D.L.Manning, R.W.Harvey, W.H.Griest, B.A.Tomkins, *J.Chromatogr.*(1984), **302**, 51.
- [119] T.F.Jenkins, D.C.Leggett, C.L.Grant, C.F.Bauer, *Anal. Chem.* (1986), **58**, 170.
- [120] C.F.Bauer, C.L.Grant, T.F.Jenkins, *Anal. Chem.* (1986), **58**, 176.
- [121] W.Kleiböhmer, K.Cammann, J.Robert, E.Mussenbrock, *J. Chromatogr.*(1993), **638**, 349.
- [122] O.Jáuregui, E.Mojano, M.T.Galceran, *J. Chromatogr.*(1997), **787**, 79.
- [123] J.Feltes, K.Levsen, M.Spiekermann, *J. Chromatogr.*(1990), **518**, 21.
- [124] L.Wenrich, J.Efer, W.Engewald, *Chromatographia* (1995), **41(5/6)**, 361.
- [125] S.Müller, J.Efer, W.Engewald, *Chromatographia* (1994), **38(11/12)**, 694.
- [126] R.Haas, I.Schreiber, E.V.Löw, G.Stork, *Fresenius. J. Anal. Chem.* (1990), **338**, 41.
- [127] C.E.Kientz, *J. Chromatogr.* (1998), **814**, 1.
- [128] U.Lewin, L.Wennrich, J.Efer, W.Engewald, *Chromatographia* (1997), **45**, 91.
- [139] U.Lewin, L.Wennrich, J.Efer, W.Engewald, , *J. Chromatogr.* (1996), **730**, 161.
- [130] U.Lewin, S.Müller, B.Schäfer, C.Struppe, J.Efer, W.Engewald, *Labor Praxis* (1994), **18**, 26.
- [131] L.Wenrich, U.Lewin, J.Efer, W.Engewald, *Vom Wasser* (1996), **86**, 341.
- [132] T.F.Jenkins, D.C.Leggett, C.L.Grant, C.F.Bauer, *Anal.Chem.* (1986), **58**, 170.

- [133] Hastenteufel, *Labor Praxis* (1992), **16**, 796.
- [134] J.Feltes, K.Levsen, D.Volmer, M.Spikermann, , *J. Chromatogr.* (1990), **518**, 21.
- [135] L.Didaoui, A.Touabet, B.Y.Meklati, U.Lewin, W.Engewald, *J. High Resol. Chromatogr.* à soumettre.
- [136] H.Magg, K.Ballschmiter, *J. Chromatogr.* (1985), **331**, 245.
- [137] M.A.Quarry, R.L.Grob, L.R.Snyder, *Anal.Chem.* (1986), **58**, 907.
- [138] J.W.Dolan, D.C.Lommen, L.R.Snyder, *J. Chromatogr.* (1989), **485**, 91.
- [139] L.R.Snyder, J.W.Dolan, D.C.Lommen, *J. Chromatogr.* (1989), **485**, 63.
- [140] R.G.Lehmann, J.R.Miller, *J. Chromatogr.* (1989), **485**, 581.
- [141] D.J.Thompson, W.D.Ellenson, *J. Chromatogr.* (1989), **485**, 607.
- [142] J.D.Stuart, D.D.Lisi, L.R.Snyder, *J. Chromatogr.* (1989), **485**, 657.
- [143] J.A.Lewis, L.R.Snyder, J.W.Dolan, *J. Chromatogr.* (1996), **721**, 15.
- [144] L.R.Snyder, J.W.Dolan, *J. Chromatogr.* (1996), **721**, 3.
- [145] K.H.Row, *J. Chromatogr.* (1998), **797**, 23.
- [146] J.W.Dolan, L.R.Snyder, N.M.Djordjevic, D.W.Hill, D.L.Saunders, L.V.Heukelem,
J.Waeghe, *J. Chromatogr.* (1998), **803**, 1.
- [147] S.Goga, S.Heinisch, J.L.Rocca, *Chromatographia* (1998), **48 (3/4)**, 237.
- [148] J.A.Hernández-Arteseros, J.Barbosa, R.Compañó, M.D.Prat, *Chromatographia* (1998),
48 (3/4), 251.
- [149] T.Yoshida, *J. Chromatogr.* (1998), **811**, 61.
- [150] J.W.Dolan, L.R.Snyder, D.L.Saunders, L.V.Heukelem, *J. Chromatogr.* (1998), **803**, 33.

ANNEXE A :

Tableau I : Valeurs des paramètres t_M et B obtenues par 3 méthodes mathématiques à différentes températures de la colonne sur la μ Bondapak C₁₈ (60:40 (v/v) en acétonitrile-eau).

Température (°C)	25			30			35			40			45			50		
Méthode	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR
3-Cétones																		
t_M	3.171 (0.139)	3.485	3.405	2.841 (0.031)	2.902	2.940	2.800 (0.011)	2.983	3.095	2.844 (0.046)	2.953	3.017	2.804 (0.051)	3.020	3.165	2.816 (0.012)	2.901	2.942
B	0.433 (0.021)	0.488	0.436	0.384 (0.003)	0.388	0.364	0.366 (0.001)	0.396	0.381	0.364 (0.006)	0.382	0.362	0.353 (0.006)	0.391	0.383	0.355 (0.001)	0.366	0.345
$S(t_{Ri})$	0.161	0.144	0.402	0.040	0.038	0.255	0.076	0.077	0.375	0.046	0.051	0.298	0.088	0.088	0.405	0.026	0.031	0.233
1-Alcools																		
t_M	2.713 (0.003)	2.545	2.444	2.519 (0.010)	2.527	2.441	2.806 (0.004)	2.783	2.773	2.749 (0.005)	2.620	2.551	2.717 (0.004)	2.602	2.544	2.652 (0.019)	2.608	2.561
B	0.373 (0.001)	0.376	0.336	0.368 (0.001)	0.370	0.332	0.385 (0.001)	0.382	0.351	0.372 (0.001)	0.358	0.323	0.364 (0.001)	0.350	0.317	0.353 (0.002)	0.347	0.315
$S(t_{Ri})$	0.049	0.125	0.395	0.108	0.106	0.370	0.005	0.011	0.122	0.034	0.075	0.316	0.026	0.064	0.287	0.029	0.049	0.255
2-Alcools																		
t_M	2.599 (0.058)	2.534	2.675	2.629 (0.068)	2.585	2.715	2.613 (0.008)	2.565	2.686	2.634 (0.014)	2.591	2.712	2.645 (0.009)	2.629	2.742	2.581 (0.009)	2.543	2.659
B	0.368 (0.011)	0.355	0.359	0.364 (0.013)	0.354	0.357	0.351 (0.001)	0.340	0.342	0.346 (0.002)	0.337	0.340	0.342 (0.001)	0.339	0.342	0.331 (0.001)	0.323	0.325
$S(t_{Ri})$	0.018	0.026	0.237	0.012	0.017	0.224	0.010	0.015	0.204	0.008	0.010	0.203	0.003	0.005	0.205	0.008	0.011	0.188
Esters (Formiates)																		
t_M	--	--	--	2.773 (0.011)	2.776	2.905	2.687 (0.029)	2.757	2.600	2.796 (0.014)	2.819	2.716	2.640 (0.021)	2.709	2.551	--	--	--
B	--	--	--	0.162 (0.016)	0.162		0.239 (0.012)	0.278	0.207	0.363 (0.016)	0.381	0.285	0.241 (0.010)	0.281	0.203	--	--	--
$S(t_{Ri})$	--	--	--	0.096	0.096	0.422	0.009	0.008	0.148	0.031	0.022	0.166	0.010	0.012	0.147	--	--	--
Esters (Acétates)																		
t_M	--	--	--	2.937 (0.079)	2.958	2.957	2.239 (0.071)	2.217	2.218	2.266 (0.099)	2.224	2.220	2.978 (0.007)	2.538	2.457	--	--	--
B	--	--	--	0.337 (0.043)	0.350	0.349	0.187 (0.011)	0.183	0.183	0.198 (0.019)	0.192	0.191	0.274 (0.015)	0.272	0.243	--	--	--
$S(t_{Ri})$	--	--	--	0.014	0.015	0.163	0.002	0.002	0.071	0.017	0.014	0.159	0.109	0.106	0.439	--	--	--

Tableau I (suite) : Colonne Spherisorb-ODS2 C₁₈ (51 :49 (v/v) méthanol-tampon phosphate pH 3.8).

Température (°C)	25			30			35			40			45		
Méthode	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR
Alkylbenzènes															
t_M	6.385 (0.066)	4.749	3.023	5.478 (0.022)	5.093	3.111	4.216 (0.019)	5.045	1.340	4.462 (0.021)	4.842	2.332	4.499 (0.012)	4.499	2.112
B	0.397 (0.002)	0.324	0.267	0.414 (0.001)	0.353	0.274	0.253 (0.001)	0.348	0.230	0.316 (0.001)	0.342	0.251	0.334 (0.002)	0.334	0.248
S(t_{Ri})	3.090	2.870	1.752	3.452	3.188	1.890	8.877	3.433	1.981	3.888	3.066	1.831	3.108	3.075	1.755
Température (°C)	30			40			50			60			70		
Aldéhydes															
t_M	2.652 (0.008)	2.655	2.652	2.773 (0.008)	2.769	2.773	2.954 (0.005)	2.926	2.915	2.729 (0.009)	2.707	2.723	2.607 (0.011)	2.637	2.622
B	0.336 (0.002)	0.336	0.335	0.338 (0.002)	0.336	0.337	0.434 (0.002)	0.418	0.412	0.307 (0.003)	0.300	0.304	0.279 (0.003)	0.289	0.284
S(t_{Ri})	0.004	0.004	0.078	0.005	0.004	0.083	0.040	0.045	0.236	0.010	0.007	0.113	0.011	0.008	0.115

Tableau I (suite) : Colonne Spherisorb-ODS2 C₁₈ (51:49 en méthanol-tampon phosphate pH 3.8).

Température (°C)	30			35			40			45			50			55			60				
Méthode	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR		
2-Cétones																							
t_M	1.943	1.990	2.044	1.922	1.974	2.160	1.947	1.935	1.853	1.981	1.928	1.855	1.972	1.936	1.865	1.986	1.946	1.865	1.995	1.937	1.872		
	0.024			0.018			0.010			0.009			0.005			0.005			0.003				
B	0.761	0.771	0.783	0.746	7.764	0.814	0.717	0.719	0.701	0.722	0.714	0.698	0.714	0.706	0.690	0.709	0.700	0.681	0.708	0.692	0.673		
	0.005			0.005			0.001			0.001			0.001			0.001			0.001				
S(t_{Ri})	0.285	0.233	0.609	0.233	0.374	1.004	0.171	0.170	0.586	0.057	0.130	0.548	0.056	0.111	0.528	0.062	0.128	0.550	0.098	0.126	0.474		
Alkylphénones																							
t_M	2.301	2.011	1.899	2.248	1.901	1.834	2.256	1.866	1.783	1.843	1.792	1.719	1.679	1.777	1.714	1.350	1.736	1.673	2.405	1.954	1.819		
	0.136			0.311			0.017			0.663			0.224			0.021			0.022				
B	0.685	0.665	0.655	0.671	0.648	0.642	0.668	0.649	0.642	0.645	0.641	0.634	0.624	0.632	0.625	0.580	0.621	0.615	0.684	0.633	0.620		
	0.008			0.017			0.001			0.005			0.203			0.001			0.002				
S(t_{Ri})	0.352	0.463	0.920	0.188	0.265	0.697	0.333	0.355	0.803	0.321	0.337	0.779	0.341	0.295	0.719	0.737	0.273	0.702	0.415	0.544	0.995		
1-Nitroalcanes																							
t_M	1.836	1.822	1.808	1.830	1.801	1.786	1.828	1.827	1.817	1.782	1.780	1.775	1.770	1.769	1.762	1.770	1.764	1.756	1.765	1.756	1.750		
	0.106			0.001			0.007			0.005			0.004			0.005			0.003				
B	0.719	0.712	0.705	0.709	0.701	0.693	0.679	0.679	0.674	0.680	0.680	0.677	0.676	0.676	0.672	0.668	0.665	0.661	0.663	0.658	0.655		
	0.003			0.001			0.003			0.001			0.001			0.002			0.001				
S(t_{Ri})	0.023	0.048	0.270	0.029	0.058	0.287	0.040	0.046	0.242	0.013	0.016	0.157	0.033	0.033	0.201	0.023	0.033	0.204	0.014	0.023	0.168		

(MP) : Méthode multiparamétrique; les écarts types sur les paramètres sont donnés entre parenthèse [10,11].

(GU) : Méthode de Guardino [45] ; (GR) : Méthode de Grobler [44].

S(t_{Ri}) : Erreur résiduelle sur les temps de rétention.

Tableau II: Indices de rétention calculés par 2 méthodes mathématique à différentes températures de la colonne.

Température (°C)	25		30		35		40		45		50	
Méthode	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU
3-Cétones												
Pentan-2-one	500.5 (3.93)	499.3	503.5 (1.29)	501.1	499.9 (0.02)	502.9	500.3 (1.64)	501.9	500.0 (2.06)	503.9	503.1 (0.68)	501.4
Hexan-2-one	595.5 (6.51)	603.1	597.4 (0.64)	596.8	586.2 (8.07)	591.8	591.3 (3.60)	594.5	582.2 (13.19)	589.3	595.6 (0.43)	596.0
Heptan-2-one	684.1 (11.91)	693.1	701.4 (0.69)	701.8	700.1 (0.30)	705.2	700.4 (1.31)	703.4	700.2 (1.39)	706.7	701.3 (0.31)	702.5
Octan-2-one	801.7 (2.83)	806.8	800.6 (0.40)	801.2	799.9 (0.19)	802.0	800.3 (1.32)	801.6	799.7 (1.31)	802.5	800.3 (0.22)	801.0
Nonan-2-one	898.7 (3.56)	897.5	898.5 (0.75)	898.9	900.1 (0.40)	897.8	899.7 (1.31)	898.4	900.0 (1.32)	897.3	899.4 (0.32)	898.9
S(I)	11.767	7.397	3.475	2.954	9.718	7.459	6.160	5.009	12.566	9.708	3.944	3.607
1-Alcools												
Butan-1-ol	381.9 (0.86)	394.5	392.3 (0.95)	395.2	--	--	381.3 (1.57)	395.4	386.2 (1.17)	395.9	394.1 (3.59)	396.5
Pentan-1-ol	508.3 (0.48)	510.0	505.1 (0.53)	508.1	498.4 (0.73)	499.5	503.4 (0.63)	507.7	505.2 (0.69)	506.9	505.8 (2.62)	505.5
Hexan-1-ol	604.2 (0.32)	601.8	599.3 (1.10)	602.2	600.7 (0.41)	600.9	601.8 (0.42)	601.9	603.7 (0.46)	601.9	603.3 (2.34)	601.8
Heptan-1-ol	700.3 (0.41)	696.2	695.1 (1.29)	697.8	700.3 (0.27)	700.0	700.3 (0.45)	698.4	701.3 (0.29)	698.2	700.3 (1.75)	698.5
Octan-1-ol	800.6 (0.28)	796.8	793.4 (1.25)	795.9	799.7 (0.19)	799.3	797.7 (1.49)	795.6	799.6 (0.21)	796.5	798.9 (1.51)	797.3
Nonan-1-ol	899.2 (0.11)	896.9	894.5 (0.77)	896.6	899.9 (0.13)	899.6	898.5 (0.28)	897.3	899.1 (0.15)	897.4	898.4 (1.26)	897.5
Décane-1-ol	999.0 (0.13)	999.3	998.2 (0.62)	999.9	1000.0 (0.09)	999.9	999.4 (0.22)	1000.0	999.4 (0.21)	999.8	999.8 (1.42)	999.9
Undécane-1-ol	1100.6 (0.11)	1104.2	1102.5 (0.57)	1103.8	1100.0 (0.08)	1100.3	1100.2 (0.12)	1103.3	1100.1 (0.08)	1103.1	1101.2 (1.48)	1102.5
S(I)	9.136	6.103	6.182	5.315	0.880	0.652	8.594	4.985	6.856	4.461	4.129	3.692
2-Alcools												
Propan-2-ol	295.3 (9.46)	298.9	297.1 (11.03)	299.1	296.3 (1.46)	298.9	296.9 (2.78)	299.4	298.9 (1.53)	299.8	297.0 (1.59)	299.1
Butan-2-ol	402.7 (5.59)	402.2	402.4 (7.46)	401.7	402.9 (0.88)	402.4	401.5 (1.72)	401.0	400.6 (0.95)	400.4	402.3 (0.98)	401.9
Pentan-2-ol	501.7 (4.10)	499.6	501.2 (5.36)	499.6	500.6 (0.65)	498.9	501.5 (1.21)	499.9	500.3 (0.71)	499.8	500.6 (0.74)	499.2
Heptan-2-ol	698.5 (2.29)	697.6	698.8 (2.96)	698.3	699.2 (0.34)	698.4	699.6 (0.42)	698.7	699.6 (0.41)	699.4	699.2 (0.40)	698.6
Octan-2-ol	800.4 (1.77)	801.6	800.1 (1.73)	801.1	800.2 (0.26)	801.1	800.3 (0.51)	800.8	800.0 (0.29)	800.4	800.2 (0.31)	800.9
S(I)	4.190	2.696	2.895	1.995	3.417	2.414	2.678	1.358	0.956	0.654	2.739	1.960

S(I): Erreur résiduelle sur les indices de rétention.

Tableau II (suite):

Température (°C)	25		30		35		40		45	
Méthode	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU
Esters (Formiates)										
Formiate d'éthyle	--	--	--	272.4	300.1 (4.30)	301.4	307.5 (3.92)	302.8	305.6 (3.33)	302.1
Formiate de propyle	--	--	--	456.5	390.7 (18.78)	396.8	391.3 (2.73)	393.1	392.3 (2.46)	395.1
Formiate de pentyle	--	--	--	540.6	600.0 (2.09)	603.7	602.5 (1.38)	609.3	603.3 (1.60)	606.0
Formiate d'hexyle	--	--	--	730.3	699.9 (1.32)	697.9	688.6 (3.64)	694.7	698.8 (1.34)	696.6
S(I)	--	--	--	91.623	9.256	5.434	16.340	13.027	10.155	8.680
Esters (Acétates)										
Acétate de butyle	--	--	600.4 (4.35)	601.0	599.5 (2.15)	599.7	598.7 (2.24)	598.6	440.0 (40.98)	588.7
Acétate de pentyle	--	--	694.8 (6.82)	696.1	701.0 (1.56)	700.8	706.1 (2.33)	704.2	766.0 (2.25)	735.0
Acétate d'hexyle	--	--	803.9 (5.68)	804.5	799.2 (1.35)	799.0	798.0 (1.44)	795.4	793.7 (1.15)	763.7
Acétate d'heptyle	--	--	899.3 (4.47)	898.2	900.1 (1.23)	900.3	904.3 (3.70)	901.5	900.5 (0.53)	912.4
S(I)	--	--	6.583	6.302	1.361	1.320	7.843	6.561	173.27	53.116
Alkylbenzènes										
Benzène	368.4 (52.72)	575.3	589.4 (5.16)	567.5	574.2 (0.63)	565.8	514.0 (4.20)	566.2	--	568.0
Méthyl benzène	635.5 (14.28)	682.4	726.4 (6.37)	694.2	691.3 (0.79)	690.2	630.2 (0.96)	695.6	--	696.1
Ethyl benzène	911.8 (13.76)	879.8	915.3 (2.93)	888.9	905.7 (0.61)	887.4	815.0 (0.25)	886.8	--	880.3
Propyl benzène	949.7 (10.28)	913.5	944.1 (2.47)	920.0	955.9 (6.44)	930.2	846.6 (1.54)	918.3	--	899.3
Butyl benzène	1067.9 (2.07)	1026.7	1029.8 (3.35)	1014.2	1064.0 (2.19)	1019.6	947.7 (1.63)	1017.8	--	1041.3
Pentyl benzène	1095.8 (2.50)	1055.0	1059.7 (1.83)	1047.6	1100.8 (1.35)	1049.4	979.9 (1.70)	1049.1	--	1056.4
Hexyl benzène	1119.9 (2.08)	1079.8	1081.6 (1.53)	1072.0	1112.9 (0.61)	1059.1	1005.0 (2.28)	1073.3	--	1088.7
Heptyl benzène	1363.2 (3.71)	1347.7	1310.2 (0.51)	1332.4	1457.0 (3.12)	1325.8	1271.0 (0.32)	1326.5	--	1294.2
Octyl benzène	1437.4 (0.85)	1433.7	1414.6 (0.30)	1453.1	1643.9 (1.69)	1466.1	1415.4 (0.19)	1461.9	--	1472.6
Nonyl benzène	1498.7 (0.31)	1505.6	1463.6 (0.57)	1509.9	1697.4 (1.73)	1505.9	1460.5 (0.49)	1504.1	--	1502.6
S(I)	112.887	63.347	69.904	68.354	146.320	73.386	102.200	68.177	--	64.140
Température (°C)	30		40		50		60		70	
Aldéhydes										
Butanal	399.5 (0.61)	399.6	400.6 (0.72)	400.4	393.8 (0.95)	397.1	401.4 (0.85)	401.2	398.3 (0.93)	398.5
Pentanal	500.5 (0.40)	500.8	499.1 (0.48)	498.7	505.8 (0.53)	506.0	497.9 (0.58)	496.6	502.4 (0.64)	504.1
Hexanal	599.5 (0.63)	599.7	601.1 (0.75)	600.7	601.2 (0.78)	601.0	603.8 (0.94)	602.3	594.7 (1.08)	596.7
Heptanal	699.1 (0.46)	699.3	700.8 (0.55)	700.5	690.3 (0.55)	690.9	701.5 (0.71)	700.4	698.2 (0.82)	699.6
Octanal	800.2 (0.40)	800.3	799.6 (0.47)	799.5	802.1 (0.40)	804.7	799.3 (0.63)	799.2	800.8 (0.75)	800.8
S(I)	0.888	0.837	1.291	1.185	9.249	8.711	0.010	0.007	4.462	3.941

Tableau II (suite):

Température (°C)	30		35		40		45		50		55	
Méthode	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU
2-Cétones												
Butanone	401.1 (2.99)	400.3	400.0 (0.58)	402.2	395.2 (1.12)	398.8	394.4 (1.40)	398.8	397.2 (0.95)	398.6	396.5 (1.00)	398.2
Pentan-2-one	497.1 (3.65)	499.2	489.2 (3.81)	493.6	501.1 (0.31)	503.3	503.6 (0.56)	504.2	505.5 (0.50)	504.7	506.7 (0.52)	505.9
Hexan-2-one	596.7 (2.36)	599.6	598.0 (2.40)	602.4	597.4 (0.72)	598.8	597.7 (0.54)	597.1	597.7 (0.29)	596.5	596.6 (0.31)	595.3
Heptan-2-one	697.8 (1.34)	700.2	699.6 (1.38)	702.6	696.9 (0.58)	697.8	699.3 (0.39)	698.6	699.8 (0.13)	698.9	700.1 (0.14)	699.2
Octan-2-one	800.1 (0.25)	801.7	800.1 (0.26)	801.3	799.3 (0.47)	799.8	800.2 (0.36)	800.1	800.4 (0.11)	800.3	800.2 (0.12)	800.1
Nonan-2-one	898.2 (1.04)	898.7	898.4 (1.09)	897.6	901.0 (0.46)	901.2	900.1 (0.38)	900.9	899.9 (0.04)	900.7	899.9 (0.04)	901.0
S(I)	3.026	1.347	6.352	4.664	3.709	2.567	4.076	3.138	3.816	3.560	4.803	4.519
Alkylphénones												
Acetophénone	798.0 (2.03)	799.2	797.7 (6.09)	799.5	792.4 (0.39)	799.3	799.0 (0.82)	799.3	799.7 (1.57)	799.3	798.7 (0.26)	799.3
Propiophénone	903.0 (1.24)	902.7	903.0 (2.91)	901.7	901.1 (0.07)	902.5	902.7 (0.62)	902.5	901.9 (2.23)	902.3	900.2 (0.06)	902.4
Butyrophénone	997.4 (0.94)	996.6	999.0 (1.71)	997.9	996.7 (0.10)	996.8	997.0 (0.57)	996.9	996.7 (2.41)	997.0	997.0 (0.16)	997.0
Valerophénone	1100.4 (0.72)	1101.3	1100.1 (1.02)	1100.8	1100.2 (0.05)	1101.2	1101.1 (0.64)	1101.2	1101.5 (3.08)	1101.1	1105.6 (0.38)	1101.1
S(I)	5.077	4.629	3.908	2.883	8.329	4.262	4.236	4.217	4.103	4.013	6.547	4.030
1-Nitroalcane												
1-Nitrométhane	98.5 (3.4)	99.7	94.5 (0.97)	99.6	99.6 (1.26)	99.7	99.4 (1.20)	99.8	99.4 (1.16)	99.8	99.1 (1.70)	99.8
1-Nitroéthane	201.1 (2.13)	200.5	199.7 (0.07)	200.5	200.1 (0.63)	200.3	200.0 (0.29)	200.3	200.0 (0.52)	200.2	200.5 (1.07)	200.3
1-Nitropropane	301.2 (1.62)	300.3	301.0 (0.05)	300.5	300.3 (3.79)	300.5	300.1 (0.51)	300.3	300.2 (0.31)	300.3	300.7 (0.77)	300.3
1-Nitrobutane	400.0 (1.13)	399.4	399.9 (0.01)	399.3	399.4 (2.34)	399.6	399.2 (0.64)	399.3	399.6 (0.35)	399.6	399.9 (0.58)	399.6
1-Nitropentane	499.2 (0.69)	499.1	498.9 (0.05)	498.9	498.5 (1.06)	498.8	499.7 (1.22)	499.8	499.2 (0.51)	499.2	499.1 (0.50)	499.1
1-Nitrohexane	600.0 (0.14)	600.7	600.1 (0.02)	600.9	600.4 (0.82)	600.7	600.1 (0.59)	600.2	600.6 (0.57)	600.6	600.3 (0.46à)	600.6
S(I)	1.358	0.826	3.246	1.029	0.965	0.901	0.601	0.503	0.698	0.652	0.904	0.748

ANNEXES B :

Tableau I : Valeurs des paramètres t_M et B obtenues par 3 méthodes mathématiques à différentes compositions de la phase mobile (méthanol-eau) sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

% Méthanol	55			60			65			70			75			80		
Méthode	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR
2-Cétones																		
t_M	3.007 (0.039)	3.041	3.083	2.972 (0.039)	2.836	2.827	3.068 (0.013)	2.990	2.991	3.056 (0.013)	2.954	2.955	3.021 (0.004)	2.930	2.932	2.964 (0.018)	2.788	2.778
B	0.740 (0.011)	0.747	0.755	0.665 (0.001)	0.634	0.631	0.701 (0.004)	0.649	0.648	0.641 (0.008)	0.590	0.590	0.622 (0.003)	0.567	0.567	0.553 (0.006)	0.491	0.487
S(t_{Ri})	0.440	0.512	0.855	0.403	0.326	0.589	0.817	0.223	0.531	0.340	0.190	0.486	0.381	0.177	0.468	0.191	0.106	0.356
Alkylphénones																		
t_M	2.615 (0.238)	2.717	2.633	2.573 (0.212)	2.729	2.668	2.534 (0.228)	2.616	2.595	2.462 (0.438)	2.519	2.493	2.368 (0.882)	2.456	2.439	2.589 (0.089)	2.598	2.589
B	0.629 (0.014)	0.634	0.629	0.570 (0.017)	0.583	0.577	0.496 (0.023)	0.505	0.502	0.467 (0.049)	0.473	0.469	0.403 (0.111)	0.414	0.089	0.397 (0.013)	0.400	0.398
S(t_{Ri})	0.432	0.374	0.822	0.306	0.222	0.636	0.163	0.137	0.492	0.111	0.102	0.428	0.079	0.067	0.345	0.055	0.051	0.302
1-Nitroalcanes																		
t_M	2.698 (0.030)	2.700	2.702	2.677 (0.042)	2.667	2.685	2.655 (0.019)	2.670	2.661	2.662 (0.004)	2.661	2.659	2.650 (0.014)	2.670	2.662	2.657 (0.006)	2.656	2.652
B	0.717 (0.010)	0.718	0.717	0.645 (0.018)	0.641	0.646	0.544 (0.009)	0.551	0.547	0.545 (0.001)	0.544	0.543	0.478 (0.008)	0.487	0.484	0.450 (0.003)	0.448	0.446
S(t_{Ri})	0.038	0.044	0.212	0.076	0.046	0.266	0.052	0.025	0.180	0.004	0.004	0.084	0.033	0.015	0.144	0.009	0.009	0.116

(MP) : Méthode multiparamétrique; les écarts types sur les paramètres sont donnés entre parenthèse [10,11].

(GU) : Méthode de Guardino [45] ; **(GR)** : Méthode de Grobler [44].

S(t_{Ri}) : Erreur résiduelle sur les temps de rétention.

Tableau II : Valeurs des paramètres t_M et B obtenues par 3 méthodes mathématiques à différentes compositions de phase mobile (acétonitrile-eau) sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

% Acétonitrile	40			45			50			55			60			65		
Méthode	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR
2-Cétones																		
t_M	2.743 (0.041)	2.739	2.744	2.724 (0.001)	2.724	2.729	2.620 (0.009)	2.621	2.634	2.705 (0.038)	2.688	2.687	2.726 (0.090)	2.716	2.722	2.739 (0.030)	2.729	2.721
B	0.568 (0.003)	0.567	0.565	0.521 (0.001)	0.522	0.522	0.466 (0.001)	0.466	0.466	0.421 (0.004)	0.419	0.419	0.397 (0.020)	0.395	0.396	0.349 (0.005)	0.347	0.345
S(t_{Ri})	0.005	0.004	0.067	0.007	0.008	0.117	0.046	0.014	0.148	0.008	0.008	0.095	0.014	0.012	0.125	0.004	0.005	0.096
Alkylphénones																		
t_M	1.817 (0.174)	1.667	1.613	2.057 (0.304)	1.749	1.716	2.246 (0.070)	1.872	1.859	1.905 (0.001)	1.638	1.633	1.923 (0.004)	1.754	1.741	2.015 (0.434)	1.670	1.662
B	0.501 (0.007)	0.493	0.490	0.465 (0.014)	0.449	0.446	0.417 (0.004)	0.394	0.392	0.340 (0.001)	0.323	0.322	0.298 (0.001)	0.286	0.284	0.268 (0.036)	0.241	0.240
S(t_{Ri})	0.183	0.201	0.602	0.140	0.165	0.541	0.102	0.109	0.438	0.006	0.071	0.355	0.056	0.049	0.296	0.046	0.047	0.289
1-Nitroalcanes																		
t_M	2.653 (0.045)	2.657	2.641	2.398 (0.008)	2.417	2.461	2.450 (0.036)	2.405	2.429	2.509 (0.058)	2.461	2.498	2.494 (0.116)	2.478	2.488	2.493 (0.045)	2.482	2.481
B	0.625 (0.008)	0.625	0.622	0.518 (0.001)	0.521	0.526	0.467 (0.006)	0.460	0.463	0.460 (0.010)	0.453	0.457	0.383 (0.024)	0.380	0.381	0.344 (0.009)	0.342	0.341
S(t_{Ri})	0.096	0.102	0.331	0.052	0.038	0.289	0.070	0.033	0.217	0.066	0.037	0.250	0.024	0.018	0.152	0.011	0.012	0.121

Tableau II (suite) :

% Acétonitrile	70			75			80		
Méthode	MP	GU	GR	MP	GU	GR	MP	GU	GR
2-Cétones									
t_M	2.776 (0.022)	2.735	2.729	2.746 (0.066)	2.772	2.799	2.791 (0.117)	2.794	2.787
B	0.339 (0.004)	0.328	0.326	0.313 (0.017)	0.320	0.329	0.310 (0.039)	0.311	0.307
S(t_{Ri})	0.010	0.010	0.118	0.009	0.011	0.137	0.005	0.005	0.078
Alkylphénones									
t_M	2.049 (0.507)	1.912	1.913	2.055 (0.250)	1.994	1.994	2.190 (0.515)	2.150	2.151
B	0.238 (0.046)	0.226	0.225	0.204 (0.024)	0.198	0.198	0.186 (0.057)	0.182	0.182
S(t_{Ri})	0.023	0.025	0.211	0.017	0.018	0.179	0.012	0.012	0.148
1-Nitroalcanes									
t_M	2.507 (0.197)	2.507	2.505	2.500 (0.039)	2.495	2.500	2.525 (0.005)	2.521	2.537
B	0.331 (0.042)	0.332	0.331	0.295 (0.008)	0.294	0.295	0.293 (0.002)	0.289	0.293
S(t_{Ri})	0.009	0.008	0.102	0.009	0.008	0.095	0.028	0.024	0.154

Tableau III: Indices de rétention calculés par 3 méthodes mathématiques à différentes compositions de la phase mobile (méthanol-eau) sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

% Méthanol	55		60		65		70		75		80	
Méthode	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU
2-Cétones												
Butanone	399.7 (1.09)	398.1	397.2 (9.63)	398.8	403.5 (3.33)	397.7	398.8 (2.51)	398.2	399.9 (0.06)	398.4	369.0 (15.67)	397.2
Pentan-2-one	509.6 (2.96)	510.0	512.9 (9.18)	506.2	520.7 (1.68)	512.0	520.8 (2.96)	510.3	519.7 (0.95)	510.1	514.3 (1.81)	514.3
Hexan-2-one	583.6 (3.83)	584.3	595.3 (8.3)	587.2	589.5 (0.78)	582.4	593.2 (1.68)	582.0	590.5 (0.68)	581.0	584.6 (1.16)	579.3
Heptan-2-one	706.1 (4.13)	706.4	717.9 (11.3)	711.4	707.3 (0.93)	706.0	715.4 (2.54)	708.1	713.6 (0.90)	709.1	712.3 (1.09)	706.8
Octan-2-one	803.4 (3.80)	803.1	799.9 (0.05)	796.1	798.8 (0.83)	803.5	806.6 (2.90)	804.7	803.7 (1.46)	805.2	804.9 (1.24)	804.4
Nonan-2-one	898.9 (4.57)	897.8	900.0 (0.02)	900.0	887.0 (1.55)	898.1	892.3 (3.62)	896.4	887.6 (2.22)	895.7	891.2 (1.66)	897.6
S(I)	11.677	11.601	13.144	10.799	16.086	13.070	16.568	13.331	16.650	14.086	23.485	15.398
Alkylphénones												
Acetophénone	799.9 (0.6)	799.4	799.8 (1.30)	799.3	799.5 (2.55)	799.3	799.7 (4.29)	799.2	799.6 (10.34)	799.2	799.1 (1.85)	799.2
Propiophénone	901.8 (1.66)	901.9	901.6 (1.80)	902.2	901.9 (2.45)	902.4	902.2 (5.96)	902.4	901.9 (12.20)	902.5	902.5 (1.57)	902.6
Butyrophénone	997.5 (1.64)	997.5	997.2 (1.98)	997.4	996.8 (2.69)	997.0	996.9 (6.14)	997.1	996.7 (13.64)	997.1	997.2 (1.50)	997.0
Valerophénone	1101.3 (2.20)	1100.9	1102.0 (3.07)	1100.9	1101.8 (3.79)	1101.1	1101.3 (7.49)	1101.0	1101.7 (18.78)	1101.0	1101.6 (2.09)	1101.1
S(I)	3.348	3.283	3.787	3.563	4.146	4.017	3.992	3.948	4.202	4.059	4.211	4.166
1-Nitroalcane												
1-Nitrométhane	99.9 (3.16)	99.9	100.1 (4.05)	100.4	99.6 (2.22)	99.4	99.9 (0.13)	99.8	99.9 (0.47)	99.2	99.9 (0.19)	99.4
1-Nitroéthane	200.0 (2.68)	200.1	199.5 (3.63)	199.1	200.3 (1.30)	201.3	200.8 (1.06)	200.6	200.7 (1.55)	201.7	202.0 (1.63)	201.6
1-Nitropropane	299.8 (3.41)	299.9	300.0 (4.67)	299.5	298.4 (2.83)	299.5	299.4 (0.71)	299.2	298.1 (2.97)	299.5	298.8 (1.24)	298.5
1-Nitrobutane	399.6 (4.20)	399.6	401.2 (5.89)	400.9	399.1 (3.78)	399.7	400.4 (0.68)	400.2	398.4 (3.82)	399.4	400.9 (1.16)	400.8
1-Nitropentane	500.8 (4.74)	500.6	500.5 (6.93)	500.6	499.2 (4.59)	498.9	499.9 (0.58)	499.9	499.1 (4.48)	499.0	498.8 (1.31)	499.0
1-Nitrohexane	599.8 (3.40)	599.6	598.6 (8.75)	599.2	602.1 (5.88)	600.8	599.9 (0.54)	600.0	602.3 (5.47)	600.8	600.1 (0.99)	600.5
S(I)	0.523	0.504	1.162	1.039	1.706	1.177	0.636	0.600	2.033	1.391	1.596	1.517

S(I): Erreur résiduelle sur les indices de rétention.

Tableau IV: Indices de rétention calculés par 3 méthodes mathématiques à différentes compositions de la phase mobile (acétonitrile-eau) sur la colonne μ Bondapak C₁₈.

% Acétonitrile	40		45		50		55		60		65		70	
Méthode	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU	MP	GU
2-Cétones														
Butanone	399.9 (3.94)	400.0	399.9 (0.01)	400.0	400.0 (0.02)	400.3	398.3 (6.60)	399.8	400.0 (1.40)	400.4	399.2 (4.40)	399.3	398.5 (5.80)	399.0
Pentan-2-one	499.8 (2.54)	499.8	499.4 (0.01)	499.5	498.6 (1.61)	499.1	499.5 (2.10)	500.0	498.9 (6.20)	498.9	501.8 (3.50)	501.5	503.4 (5.40)	501.5
Hexan-2-one	600.0 (1.18)	600.0	600.4 (0.01)	600.4	599.4 (0.30)	600.0	600.2 (0.80)	600.3	600.1 (7.80)	599.9	599.7 (1.80)	599.2	603.8 (4.20)	601.2
Heptan-2-one	700.0 (0.60)	700.0	700.0 (0.01)	700.0	700.0 (0.10)	700.7	699.9 (1.40)	699.9	701.0 (7.90)	700.8	700.0 (1.50)	699.7	699.9 (0.40)	697.8
Octan-2-one	799.9 (0.07)	799.9	799.8 (0.01)	799.8	799.0 (0.60)	799.9	799.4 (0.87)	799.5	800.5 (8.10)	800.4	799.8 (1.40)	799.7	800.0 (0.40)	799.2
Nonan-2-one	900.0 (0.68)	900.0	900.0 (0.01)	899.9	898.7 (1.09)	899.7	900.0 (0.20)	900.2	899.2 (9.20)	899.3	900.0 (1.40)	900.3	899.9 (0.90)	901.1
S(I)	0.101	0.089	0.409	0.398	1.244	0.717	1.045	0.397	1.025	0.947	1.168	1.082	3.104	1.947
Alkylphénones														
Acetophénone	799.2 (1.43)	799.4	798.6 (3.45)	799.4	798.5 (1.02)	799.3	798.1 (0.01)	799.3	799.9 (0.01)	799.2	797.9 (8.00)	798.9	798.4 (9.30)	799.2
Propiophénone	902.1 (1.13)	901.8	903.0 (2.34)	902.0	904.1 (0.74)	902.1	903.2 (0.01)	902.3	904.5 (0.05)	902.5	905.4 (5.90)	903.4	903.1 (6.30)	902.5
Butyrophénone	997.9 (1.01)	997.9	998.3 (1.75)	997.5	999.1 (0.37)	997.4	998.1 (0.01)	997.3	999.1 (0.02)	997.2	997.9 (3.90)	996.2	997.8 (5.30)	997.2
Valerophénone	1100.0 (0.17)	1100.7	1100.1 (0.77)	1100.9	1100.6 (0.54)	1100.9	1100.3 (0.01)	1100.9	1101.6 (0.06)	1100.9	1100.4 (3.20)	1101.3	1100.4 (4.60)	1101.0
S(I)	3.083	2.951	3.745	3.368	4.460	3.546	4.148	3.744	4.867	3.912	6.183	5.411	4.178	3.983
1-Nitroalcanes														
1-Nitrométhane	100.0 (0.77)	99.8	100.2 (0.45)	100.7	100.1 (1.09)	100.6	100.4 (2.13)	101.1	100.2 (5.12)	100.7	99.3 (3.92)	99.4	99.2 (19.56)	99.4
1-Nitroéthane	199.9 (1.85)	199.9	196.8 (0.78)	197.8	199.1 (1.34)	198.2	198.0 (2.51)	197.2	198.4 (7.02)	198.3	201.2 (3.61)	200.8	200.6 (12.76)	200.8
1-Nitropropane	300.4 (2.81)	300.6	299.9 (0.15)	300.9	301.1 (2.44)	300.0	302.0 (3.61)	300.7	300.2 (8.89)	299.8	301.4 (4.17)	300.8	300.5 (11.91)	300.6
1-Nitrobutane	399.6 (3.74)	399.9	400.2 (0.16)	401.1	402.1 (2.41)	401.4	402.3 (4.12)	401.3	401.4 (8.46)	401.1	399.5 (2.31)	398.9	398.9 (12.63)	398.9
1-Nitropentane	498.5 (6.01)	498.8	498.9 (0.51)	499.5	500.1 (2.87)	500.1	500.6 (4.75)	500.4	500.8 (9.52)	500.9	499.2 (2.55)	498.8	499.3 (14.13)	499.2
1-Nitrohexane	600.2 (3.07)	600.6	599.5 (0.72)	599.7	598.2 (3.59)	599.3	598.2 (5.14)	599.0	598.5(11.75)	599.0	601.0 (3.67)	600.9	600.9 (17.99)	600.7
S(I)	0.923	0.841	1.931	1.610	1.845	1.423	2.383	2.028	1.565	1.471	1.403	1.274	1.115	1.091

Tableau IV (suite) :

% Acétonitrile	75		80	
Méthode	MP	GU	MP	GU
2-Cétones				
Butanone	404.0 (12.50)	402.4	399.7 (35.90)	399.3
Pentan-2-one	494.1 (8.80)	494.3	502.6 (20.80)	502.7
Hexan-2-one	600.6 (6.90)	601.7	596.2 (15.60)	596.4
Heptan-2-one	701.3 (5.40)	702.3	701.1 (11.80)	701.3
Octan-2-one	799.9 (4.00)	800.2	800.4 (8.90)	800.5
Nonan-2-one	899.7 (4.50)	898.8	899.7 (8.10)	899.6
S(I)	4.202	3.980	2.768	2.752
Alkylphénones				
Acetophénone	798.9 (3.90)	799.1	799.0 (8.90)	799.2
Propiophénone	902.9 (3.20)	902.6	902.7 (7.50)	902.4
Butyrophénone	997.4 (2.90)	997.1	997.5 (6.90)	997.3
Valerophénone	1100.7 (2.90)	1101.0	1100.7 (7.20)	1100.9
S(I)	4.128	4.088	3.892	3.871
1-Nitroalcanes				
1-Nitrométhane	98.7 (5.66)	99.6	100.1 (0.24)	99.5
1-Nitroéthane	199.6 (3.58)	200.0	199.7 (0.16)	199.7
1-Nitropropane	301.6 (2.46)	301.6	300.1 (0.13)	300.8
1-Nitrobutane	399.4 (2.60)	399.2	402.1 (1.30)	403.8
1-Nitropentane	498.6 (2.02)	498.3	490.6 (2.00)	493.1
1-Nitrohexane	601.4 (2.84)	601.1	599.2 (2.43)	602.8
S(I)	1.686	1.572	5.555	4.844